

EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editeurs:

R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10

SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

Vol. VIII. — Fasc. 10

15. X. 1952

Fr. 3.—

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

J. GILLIS: Microchimie et ultra-microchimie	365
P. HOFFMANN: Kurzer Überblick über die Beziehungen der Reflexversuche mit der elektrischen Methodik bei Mensch und Tier	371

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

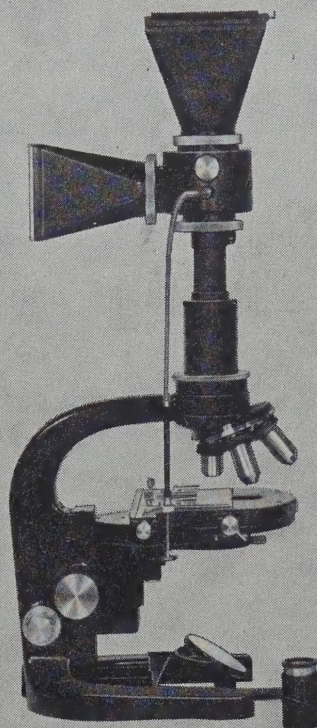
H. FRICKE: The Dielectric Properties of Two-Body Systems	376	R. LOUIS: Recherches sur la biogenèse de l'acide pantothénique chez <i>Pisum sativum</i>	385
B. WITKOP and (Miss) SIDNEY GOODWIN: Significance and Rearrangements of Quinol Models of Tyrosine Metabolites	377	W. H. SCHOPFER et R. LOUIS: Essais de greffe de points végétatifs de <i>Pisum</i> sur des méristèmes radiculaires cultivés <i>in vitro</i>	388
S. UDENFRIEND, C. T. CLARK, and E. TITUS: The Presence of 5-Hydroxytryptamine in the Venom of <i>Bufo Marinus</i>	379	R. MATTHEY: Chromosomes de Muridae (II)	389
R. AMPRINO: Further Experiments on the Fixation <i>in vitro</i> of Radiocalcium to Sections of Bone	380	M. ELAINE MAC KENDRICK and G. PONTECORVO: Crossing-over between Alleles et the <i>w</i> Locus in <i>Drosophila melanogaster</i>	390
L. PEROSA and G. RACCUGLIA: Researches on the Chemical Composition of the Erythrocyte Membrane	382	A. L. BADRELDIN: Frequency of Successful Conception under Free Mating Conditions in the Egyptian Buffaloes	391
PATRICIA HARRIS and T. W. JAMES: Electron Microscope Study of the Nuclear Membrane of <i>Amoeba Proteus</i> in Thin Section	384	W. v. BUDDENBROCK und INGRID MOLLER-RACKE: Neues zur Optomotorik der Insekten	392
A. L. HOUWINK: Contamination of Electron Microscope Preparations (Disputanda)	385	A. MONROY and LUISA TOSI: A Note on the Jelly-Coat-Sperm Interaction in Sea-Urchin	393
R. ROSSI: The Cytochromoxydase Activity in the Uterus of Experimental Animals	386	K. FROMHERZ und B. PELLMONT: Morphinantagonisten	394
R. DULBECCO and J. J. WEIGLE: Inhibition of Bacteriophage Development in Bacteria Illuminated with Visible Light	386	M. A. GEREBTZOFF et E. PHILIPPOT: La réaction plasmocytaire dans l'intoxication des mammifères par le DDT et par le diphénylméthane	395

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Surface-active Quaternary Ammonium Germicides. By Carl A. Lawrence (Academic Press Inc. Rubl. New York, 1950) (Ref. F. L. Breusch)	397	Die technischen Grundlagen der kinematischen Zellforschung. Von Willi Kuhl (Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1949) (Ref. W. Bejdl)	398
Physical Chemistry of Hydrocarbons. Vol. I. Edited by A. Farkas (Academic Press. Inc. Publishers, New York, 1950) (Ref. F. L. Breusch)	397	Atlas der normalen Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen. Von E. v. Errath und S. Abramow (Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1950) (Ref. W. Bejdl)	398
Handboek der Algemenen Erfelijkheidssleer. Von M. J. Sirks (Verlag Martinus Nijhoff, 's-Gravenhage 1951) (Ref. A. Frey-Wyssling)	397	Contribución del coeficiente citológico a la fisiología y patología de la correlación hipofisotiroides. Por E. Del Conte (El Ateneo, Buenos Aires 1949) (Ref. K. S. Ludwig)	398
The Integument of Arthropods. By A. Glenn Richards. (University of Minnesota Press, Minneapolis, 1951) (Ref. M. Lüscher)	397	L'energia atomica. Di B. Bellion e F. De Michelis (Casa editrice Rosenberg & Sellier, Torino) (Ref. G. G. Poretti)	399
		Taschenatlas der Schweizer Flora. Von Eduard Thommen (Verlag Birkhäuser AG., Basel 1951) (Ref. P. Aellen)	399

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

De Principiis: HEDWIG CONRAD-MARTIUS: Das Artproblem in naturphilosophischer Beleuchtung	400
Congressus	404



Bessere mikrophotographische Aufnahmen

Eine Ausrüstung, die sich durch ihre hohe Leistung in der Praxis bewährt hat: WILD-Mikroskop M 10 BK mit Aufsatzkamera WILD und der leistungsfähigen Niedervolt-Mikroskopierlampe WILD mit Verbindungsschiene. – Ausführliche Beschreibung im Katalog Mi 511.

WILD
HEERBRUGG

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – *Experientia* VIII/10

Biological Abstracts, Philadelphia
Carl Hanser Verlag, München
Ciba AG., Basel
Chemie Verlag, Weinheim

Dr. Bender Dr. Hobein AG., Zürich
Ganz & Co., Zürich
Ozalid AG., Zürich
Sandoz AG., Basel

Steiner & Co., Basel
Trüb, Täuber & Cie., Zürich
Wild, Heerbrugg

Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern bei der Post abonniert werden:
EXPERIENTIA can be subscribed directly through any Post Office in the following countries:

Belgien-Luxemburg
Holland

Dänemark
Norwegen

Schweden
Finnland

Portugal
Marokko

Italien
Deutschland

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.-; abonnement pour un an fr. 28.- pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.-. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.-, im Ausland sFr. 34.-; die Einzelnummer kostet Fr. 3.-.

Insertionspreise: $\frac{1}{4}$ Seite Fr. 220.-, $\frac{1}{2}$ Seite Fr. 132.-, $\frac{1}{4}$ Seite Fr. 77.-. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.-. L'abbonamento annuo è di fr. 28.- per la Svizzera; all'estero fr. 34.-. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.-, by annual subscription by inland-mail fr. 28.-; other countries fr. 34.-. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $\frac{1}{4}$ page fr. 220.-, $\frac{1}{2}$ page fr. 132.-, $\frac{1}{4}$ page fr. 77.-. Advertisements should be sent to the publishers.

Copyright 1952 by Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15, Tel. 498 00; Telegrammadresse: Edita Basel

Printed in Switzerland by E. Birkhäuser & Cie. AG., Basel

**ORIGINAL
HANAU-BRENNER**

für Betrieb und Labor

Labor
Tauchlampen
Sterilisationslampen
Flutxlampen

Industrie
Stab-Tauchsieder
aus Quarzglas
BI-Destillierapparate
Analysenlampen



OZALID AG ZÜRICH

Flaschengasse 5 Telefon (051) 24 47 57

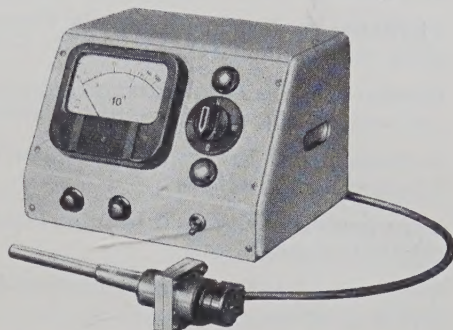
Gerätebau-Anstalt



Balzers (FL.)

Vakuum-Messgeräte

kontinuierlich anzeigend zwischen
10⁻⁵ bis 1 mm Hg



Vollkommen unempfindlich gegen Luftleinbrüche in eingeschaltetem Zustand. Einstellzeit max. 2 Sek. Eingebauter Umschalter für Anschluß von 4 Meßzellen, Gerät auch als „Leak-detector“ verwendbar.

Verkaufsorganisation

Trüb, Täuber & Co. AG. Zürich

Fabrik elektr. Meßinstrumente und wissenschaftl. Apparate

Zweite, erweiterte Auflage

GERHARD SCHRADER

Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen

Monographie Nr. 62 zu «Angewandte Chemie» und
«Chemie-Ingenieur-Technik»
1952. 96 Seiten. Kartiert DM 8,50

Diese Monographie, deren erste Auflage schon nach einem Jahr vergriffen war, brachte zum ersten Male eine zusammenfassende Darstellung der Entwicklung organischer fluor- und phosphorhaltiger Verbindungen als Schädlingsbekämpfungsmittel, über deren Entwicklung, Herstellung, Eigenschaften, Analyse und Anwendung ausführlich berichtet wird.

Auf die Erweiterung des gesamten Gebietes durch das neue systemische Insektizid «Systox» und durch die Herstellung einer Reihe von organischen *Phosphor-Selen-Verbindungen* wird in der Neuauflage ausführlich eingegangen.

Prospekt auf Wunsch

VERLAG CHEMIE, GmbH.

WEINHEIM/BERGSTRASSE Deutschland

H. FROMHERZ – A. KING

Englische und deutsche chemische Fachausdrücke

Ein Leitfaden der Chemie
in englischer und deutscher Sprache

Lizenz Ausgabe für Deutschland, Österreich und die Schweiz
1952. 2. neubearbeitete Auflage. XV, 361 Seiten. Ganzleinen DM 15,60

Aus Besprechungen:

«... Es wurden im ganzen über 800 neue Ausdrücke verarbeitet, so dass die Neuauflage fast 5000 fachtechnische Ausdrücke enthält...»

Chem. Zentralblatt, 9/1952

«... Es vereinigt Sprachlehre, Lexikon, Leitfaden und Nachschlagebuch in einem einzigen Band...»

Gummi und Asbest, 5/1952

«... Das vorliegende Buch vermittelt sprachliche und sachliche Kenntnisse in einer neuen, äusserst anregenden Art und kann allen Fachleuten, vor allem auch den Studierenden der Chemie, bestens empfohlen werden.»

Neue Zürcher Zeitung, 22. 5. 1952

Prospekt mit Probeseiten auf Wunsch

VERLAG CHEMIE, GmbH.

WEINHEIM/BERGSTRASSE Deutschland

NEUES **ZEISS-WINKEL** STANDARD-MIKROSKOP GF 525

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

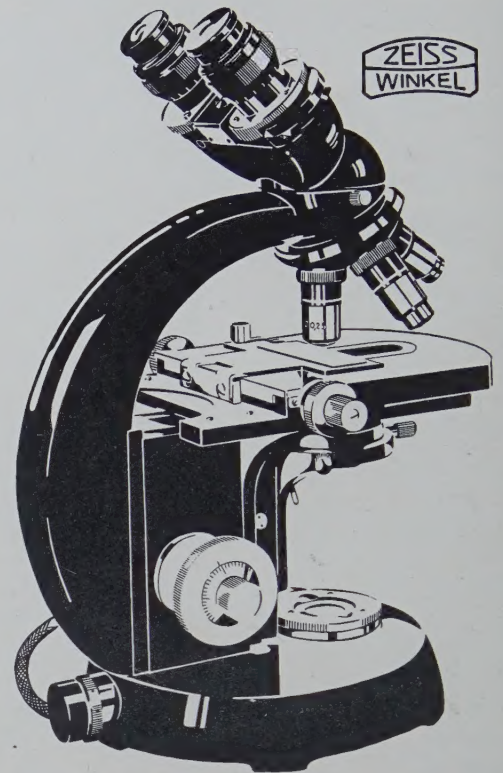
- Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie
- Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung
- Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen
- Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive
- Vergrößerungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)
- Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor
- Neue Achromate und Neofluare mit dezimal-geometrischer Abstufung der Vergrößerungen

Auskunft und Vorführung durch die
Generalvertretung für die Schweiz:

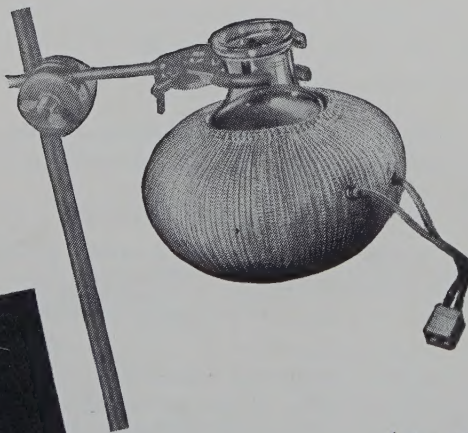
GANZ & Co

BAHNHOFSTR. 40
TEL. (051) 23 97 73

Zürich



Electrothermal



die vielseitigen Heizgeräte

**HEIZMÄNTEL
HEIZBÄNDER
HEIZKALOTTEN**
robust, sauber,
sparsam
feuersicher

aus gestrickter

elastischer Glaswolle

Vertreter für die Schweiz

Dr. Bender und Dr. Hobein AG., Zürich 6
Tel. (051) 26 17 77, Postfach Zürich 42
Riedlstr. 15a,

N. ZIVY & Cie., S.A., Basel 9
Basel 9 Spalenring 164
Tel. (061) 2 59 90, Postfach

Microchimie et ultramicro-chimie

(Historique et développement actuel)

Par J. GILLIS¹, Gand

1° Définition de la microchimie

La microchimie a pour objet l'étude des techniques permettant d'exercer la chimie sur des quantités de matière tellement faibles que l'appareillage ordinaire n'est plus approprié à leur traitement. Ces techniques peuvent être de nature analytique, préparative ou physico-chimique.

2° Echelle des microtechniques

Pour éviter les confusions relatives au sens des préfixes micro et ultra-micro, il convient d'en donner une définition ne laissant subsister aucun doute. La table suivante précisera notre terminologie.

Echelle des microtechniques		
Ordre de grandeur de l'échantillon	Terminologie conventionnelle	Echelle du
100 mg	macro-	décigramme
10 mg	semi-micro-	centigramme
1 mg	micro-	milligramme
10^{-3} mg = 1 μ g	ultra-micro-	microgramme
10^{-6} mg = 1 ng	sub-micro	nanogramme

3° Unités courantes en microchimie

(La table suivante les résume et en fixe les valeurs).

1 microgramme = 10^{-6} g = 1 μ g = 1 γ (gamma)
 1 microlitre = 10^{-6} l = 1 μ l = 1 λ (lambda)
 1 microéquivalent = 10^{-6} val = 1 μ -val = 1 ϵ (epsilon)

4° Représentation graphique de l'ordre de grandeur de la prise d'essai

Pour simplifier et généraliser le problème, on peut dire qu'il existe, en chimie analytique, certains rapports quantitatifs entre

le corps à doser A , présent en quantité a ,
 le dissolvant B , présent en quantité b ,
 les substances étrangères C , présentes en quantité c .

A l'aide des fonctions: $pA = -\log a$, $pB = -\log b$, $pC = -\log c$ il est possible, de donner une représentation graphique¹, de tous les mélanges possibles en trois constituants A , B et C .

Mode de représentation dans l'espace: Dans un système de coordonnées rectangulaires aux axes: pA , pB et pC on réalise une figure dans l'espace (fig. 1) permettant la représentation de n'importe quel mélange de quantités a , b et c ; l'origine du système de coordonnées correspondant au mélange pour lequel $a=b=c=1$.

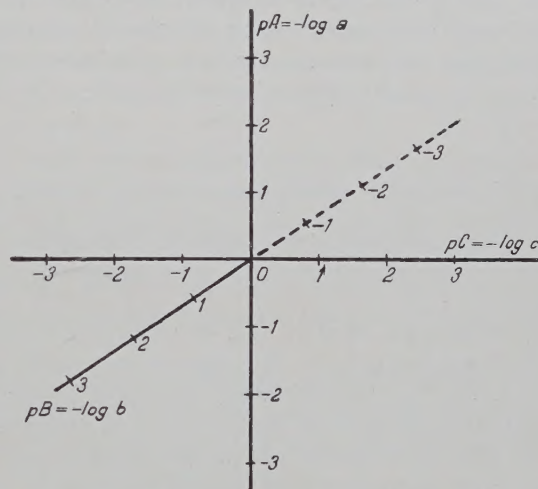


Fig. 1. Représentation dans l'espace, en coordonnées cologarithmiques, de tous les mélanges possibles de substances A , B et C , en quantités a , b et c .

Mode de représentation dans un plan: Si on choisit une quantité de dissolvant déterminée et qu'on la maintient constante, on réalise une coupe dans l'espace passant par le point $pB = -\log b$ et on obtient ainsi un plan où toutes les valeurs de a et de c peuvent être représentées, pour $b = \text{constante}$.

Si $b = 1$, le système ternaire $A + B + C$ est figuré par le plan passant par $pB = 0$. Il est donné par la figure 2. Si $b = 0$, le système est ramené à un système binaire $A + C$, figuré dans un plan passant par $pB = -\infty$. Ce plan se borne alors à la représentation des prises d'essai.

¹ Laboratoire de Chimie analytique, Université de Gand (Belgique).

¹ J. GILLIS, Microchem. ver. Microchim. Acta 36/37, 151 (1951); J. Chem. Educ. 29, 170 (1952).

Les lieux géométriques des mélanges de A et de C pour lesquels la somme $a + c$ est égale à une constante, sont donnés sur la figure 2, par des courbes, dont quelques-unes passent par les valeurs $a + c = 1, = 10^{-1}, = 10^{-2}$, etc.

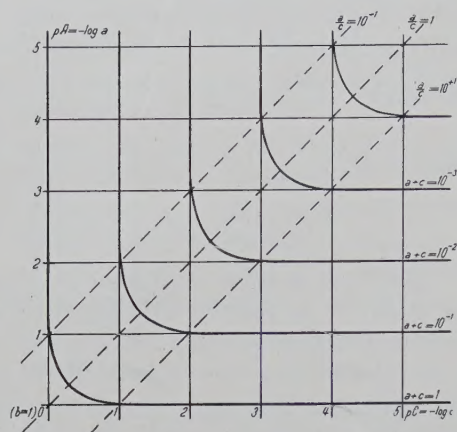


Fig. 2. Diagramme de mélanges des substances A , B et C , et courbes des prises d'essai: $(a + c)$ pour $b = 1$.

Ces lieux géométriques marquent des prises d'essai dont l'ordre de grandeur va en décroissant: gramme, décigramme, centigramme, etc. On peut les désigner du nom de courbes des prises d'échantillon ou des prises d'essai.

5° Historique du développement de la gravimétrie

a) *Art de l'essayeur et macroanalyse*: L'évolution de la gravimétrie est parallèle au développement de la balance.

En métallurgie et dans l'art de l'essayeur les méthodes d'analyse peuvent être considérées comme anciennes. En effet, les méthodes à la pierre de touche étaient déjà connues du temps de *PLINE* et les méthodes dites de docimasie ont pu être publiées, peu de temps après la naissance de l'imprimerie, sous le titre de «*Probierebüchlein*», dont l'un des colophones, édité vers 1520, représente l'essayeur, muni de sa balance¹.

Vers 1550, *BIRINGUCCIO* en Italie publie l'œuvre intitulée «*Pyrotechnia*» ou l'art du feu et *AGRICOLA*, en Allemagne, livre à la presse «*De re metallica*», superbe traité de métallurgie, très complet, et orné de remarquables gravures.

L'une d'elles donne une image fidèle des trois balances, employées à cette époque par l'essayeur: la première, pour la pesée de l'échantillon, celui-ci allant de 500 g à 1 kg; la seconde, pour la pesée des flux et du plomb additionnel; la troisième, pour la pesée des régules d'or ou d'argent. Cette balance, de portée moindre, est placée sous cage et d'une sensibilité correspondant au milligramme.

¹ Anonymus, *Bergwerk- und Probierebüchlein*. (1520). — A translation from the German (The American Institute of Mining and Metallurgical Engineers, New York, 1949), Colophon, p. 166.

Ces données, caractérisant l'art de l'essayeur au XVI^e siècle, nous fournissent, dans la figure 3, la courbe des prises d'essai donnée par

$$\log(a + c) = -3, \text{ soit } a + c = 10^3 \text{ g} = 1 \text{ kg},$$

comprenant une flèche au niveau

$$pA = +3 = -\log a, \text{ soit } a = 10^{-3} \text{ g} = 1 \text{ mg}$$

qui rend compte de la sensibilité de la balance, utilisée à cette époque.

Chose remarquable: la docimasie, à la fin du siècle dernier (XIX^e), utilisait encore les mêmes instruments qu'au temps d'*AGRICOLA* et *BIRINGUCCIO* et reposait complètement sur les mêmes principes. Pendant les trois siècles compris entre le XVI^e et le XIX^e, des balances de sensibilité supérieure ont été construites et sont devenues d'un usage courant en chimie:

FRESENIUS, vers 1840, employait une balance pesant au 0,1 de milligramme, balance ayant la même sensibilité que nos balances analytiques actuelles. Au début du XX^e siècle, l'essayeur pouvait opérer à l'aide d'une balance, dite «balance de l'essayeur», permettant des pesées jusqu'au centième de milligramme.

Tandis que la balance devient plus sensible, la prise d'échantillon se réduit: elle passe de

10 g vers 1700, à

1 g vers 1810, à

0,1 g vers 1840.

La distance qui sépare, sur la figure 3, le poids de prise d'essai et la sensibilité de la balance est une mesure de la sensibilité de la méthode d'analyse elle-même.

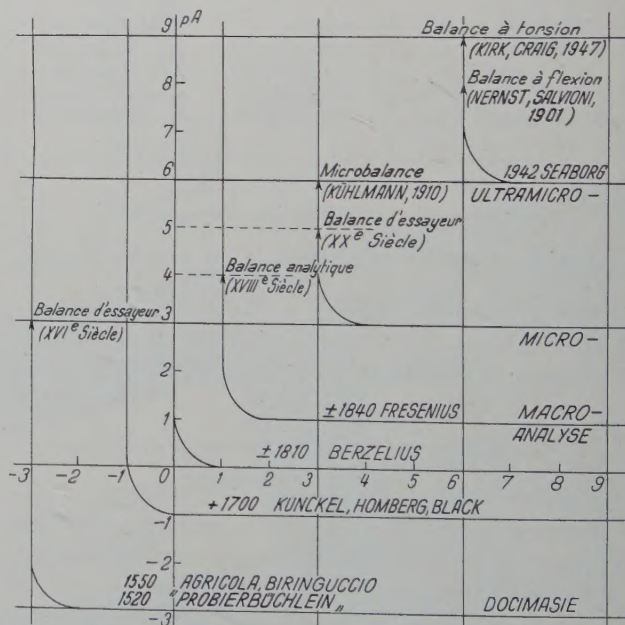


Fig. 3. Diagramme traçant l'historique, en gravimétrie, de l'évolution de la prise d'essai, et de la sensibilité de la balance.

Pour le dosage de traces l'art de l'essayeur permet aisément le dosage de 1 p.p.m.: 1 mg d'or dans un

échantillon de 1 kg (vers 1550); 0,01 mg d'or dans 10 g (vers 1900).

b) *Naissance et développement de la microchimie.* Vers 1910, PREGL, intéressé à l'analyse de matières organiques d'origine animale, s'adresse à la firme KUHLMANN pour réaliser une balance capable de peser à un millième de milligramme près, de façon reproductible et exacte. KUHLMANN réalise alors la construction de la première microbalance, d'une portée de deux fois dix grammes et sensible à quelques microgrammes près, le prototype des microbalances, dont il s'en trouve actuellement une foule sur le marché.

Grâce à cette balance PREGL met au point les techniques devenues classiques de la microanalyse organique élémentaire et réalise l'analyse de quelques milligrammes de substance [$-\log(a+c) = 3$] à quelques microgrammes près ($pA = 6$), l'intervalle étant de 3 unités; par conséquent à un millième près¹.

L'approximation des méthodes de PREGL égale celle de l'analyse élémentaire classique (LIEBIG, DUMAS, etc.) et de la gravimétrie macroanalytique où $-\log(a+c) = 10^{-1}$ et $pA = 4$.

Dans le domaine inorganique la microchimie analytique a fait également des progrès considérables.

La microélectrolyse, la microanalyse de roches, l'analyse des inclusions dans les métaux peuvent être citées comme domaines d'application particuliers des nouvelles techniques, où la mise en œuvre de réactifs organiques (diméthylglyoxime, α -nitroso- β -naphtol, oxine, etc.) a contribué dans une large mesure à les promouvoir.

Les séparations solide-liquide s'opèrent couramment de nos jours par les techniques de la baguette filtrante de EMICH, de l'entonnoir filtrant de PREGL, du creuset filtrant de NEUBAUER, du bûcher-filtre de SCHWARZBERGKAMPF, du tube filtrant de KIRK.

L'enseignement et l'industrie font de plus en plus appel à ces méthodes microgravimétriques.

Signalons également que les techniques à l'échelle semi-micro, pour lesquelles $-\log(a+c) = 2$ et $pA = 5$, effectuées à l'aide de balances semi-micro ou de balances d'essayeur, sont également d'un grand attrait pour l'industrie et les laboratoires d'élèves, les pesées au centième de milligramme étant plus rapides et plus facilement reproductibles que les pesées au microgramme près.

Au besoin l'analyse semi-micro peut se réaliser à l'aide d'une bonne balance analytique en prenant une prise d'essai suffisante.

Il existe d'autre part des microbalances du type de SALVIONI, basées sur la flexion d'une fibre de quartz². Ces balances exigent beaucoup moins de précautions que les balances à couteaux et sont d'un usage vraiment

pratique en microchimie. Elles sont aisées à construire et sont employées couramment par les élèves au laboratoire des docteurs B. B. CUNNINGHAM et C. W. KOCH à Berkeley à l'Université de Californie¹. — Une firme belge² construit, pour les besoins de l'industrie textile, une pareille microbalance, mais en fil de tungstène au lieu de fibre de quartz.

c) *Naissance et développement actuel de l'ultra-microgravimétrie.* En 1942 SEABORG³, ayant obtenu au cyclotron quelques microgrammes de plutonium, eut à mettre au point les techniques nécessaires à l'étude du nouvel élément.

C'est alors qu'il fut fait appel à Paul KIRK, chimiste et microchimiste de l'Université de Berkeley (Californie) pour réaliser, à Chicago dans le plan général de défense du Gouvernement américain, une balance permettant la pesée de quelques microgrammes [$-\log(a+c) = 6$] de substance, au millième de microgramme près ($pA = 9$). Il en résulta la construction d'une balance à torsion en fibre de quartz utilisée bientôt. Le modèle perfectionné, dû à KIRK, CRAIG, GULLBERG, fut décrit en détail⁴ en 1947 et est utilisé actuellement à Berkeley au Radiation Laboratory de l'Université de Californie. En observant toutes les précautions nécessaires, cette balance à torsion permet effectivement des pesées de quelques milligrammes au millième de microgramme près.

D'autre part le Laboratoire de chimie analytique de Berkeley, dirigé par B. B. CUNNINGHAM et C. W. KOCH⁵, fait couramment usage, pour les travaux des élèves⁶, d'une balance⁷ construite au laboratoire même et permettant, de mon expérience personnelle, des pesées aisément reproductibles aux centième de microgramme près⁸.

Les travaux à l'échelle ultra-micro nécessitent l'emploi d'un microscope pour observer l'échantillon et d'un micromanipulateur pour effectuer les traitements chimiques nécessaires.

En 1937 BENEDETTI-PICHLER, d'origine autrichienne et formé à l'école de EMICH et de PREGL, décrivait aux E. U. l'emploi de microcônes pour l'analyse quali-

¹ Notes de microchimie miméographiées du Laboratoire de Chimie analytique de l'Université de Californie, Berkeley, Californie. Directeurs: B. B. CUNNINGHAM et C. W. KOCH.

² TAPI (Adresse: Voormuide 64, Gand, Belgique).

³ G. T. SEABORG, Chem. Eng. News 23, 2190 (1945).

⁴ P. L. KIRK, R. E. CRAIG, J. E. GULLBERG et R. Q. BOYER, Anal. Chem. 19, 427 (1947).

⁵ B. B. CUNNINGHAM, Nucleonics 5, N° 5, 62 (1949).

⁶ Exercices effectués par les élèves à l'échelle ultra-micro: Préparation et purification de l'acétylglycine, détermination du point de fusion sous le microscope, dosage de l'azote par la méthode de diffusion, ultra-micro-Kjeldahl d'après KIRK, détermination du microéquivalent d'un acide, chromatographie sur papier des amino-acides, séparation et identification de terres rares.

⁷ La firme Misco (adresse: 1834 University Avenue, Berkeley 3, Californie) met sur le marché une balance à torsion du même modèle.

⁸ Notes de microchimie miméographiées du Laboratoire de Chimie analytique de l'Université de Californie, Berkeley, Californie. Directeurs: B. B. CUNNINGHAM et C. W. KOCH.

¹ FR. PREGL, *Die quantitative organische Mikroanalyse* (Julius Springer, Berlin 1916). — FR. PREGL et H. ROTH, idem, 4^e éd. (Julius Springer, Berlin 1935.)

² B. B. CUNNINGHAM, Nucleonics 5, N° 5, 62 (1949).

tative à l'échelle ultra-micro¹. Il opérait à l'aide d'un microscope ordinaire, d'un micromanipulateur et d'une microseringue couplée à une micropipette. Disons à titre d'exemple qu'il précipitait des quantités de BaSO₄, de l'ordre de 10⁻¹³ g, contenues dans une ultra-microgoutte, enrobée dans de l'huile de paraffine, pour éviter l'évaporation de l'eau.

À l'aide d'une technique analogue, où un microscope binoculaire remplaçait toutefois le microscope ordinaire, l'école de SEABORG réalisa, pendant la deuxième guerre mondiale, les séparations ultra-microchimiques de divers produits de fission.

B. B. CUNNINGHAM et C. W. KOCH² font couramment usage de cette technique pour apprendre à leurs élèves la manipulation de quantités de l'ordre du microgramme. (Exercice: préparation et purification d'acétylglycine, d'oxalate de thorium, etc.)

Le dosage gravimétrique à l'échelle ultra-micro d'un produit tel que l'oxalate de thorium a été décrit en détail par B. B. CUNNINGHAM³. La technique reste la même et nécessite l'emploi d'un microcône (taré à la balance à torsion), d'une pipette de 1 λ , couplée à une seringue pour tuberculine de 1 ml.

La platine du microscope binoculaire porte le petit tube à réaction et le micromanipulateur permet de guider l'extrémité capillaire de la pipette à l'intérieur du microcône. Avec un peu d'exercice ces opérations chimiques en cône capillaire peuvent être réalisées avec succès, comme j'ai pu m'en rendre compte personnellement à Berkeley.

L'ultra-microgravimétrie peut être considérée aujourd'hui comme l'une des techniques chimiques applicables à l'analyse de solutions.

6° La titrimétrie à l'échelle micro et ultramicro

a) *Manipulation de solutions titrées à l'échelle du λ* . Tout comme en titrimétrie macrochimique il y a lieu de manipuler, à l'échelle micro et ultra-micro, des solutions titrées en faisant usage de pipettes, de burettes, de récipients de titrage et d'agitateurs.

KIRK fait usage d'appareils simples et robustes, permettant d'effectuer les opérations titrimétriques à faible échelle. La mesure de la quantité de solution à analyser s'effectue aisément au moyen des pipettes de 5 à 100 λ , décrites par SISCO, CUNNINGHAM et KIRK⁴, pouvant être remplies et vidées à l'aide d'une seringue de verre de 1 ml, telle qu'on s'en sert pour injections hypodermiques de tuberculine par exemple. Ces pipettes sont graduées au contenu et non à la vidange et

doivent être rincées à l'aide du solvant pour délivrer quantitativement le contenu. Elles permettent une reproductibilité de $\pm 0,1\%$. De nombreux types de burettes pour ultra-microtitrimétrie ont été décrites¹ (BRANDT-REHBERG, LINDERSTROM-LANG et HOLTER; SCHOLANDER; SISCO, CUNNINGHAM, KIRK).

Le modèle de burette capillaire de KIRK, mis en vente par la firme Misco, est universel en ce sens qu'il opère suivant le même principe aussi bien pour des volumes de 1 ml que de 35 λ . Seul le diamètre du capillaire est différent suivant les cas. L'échelle étant graduée de 0 à 35 et chaque division de l'échelle étant divisée en dixièmes, les centièmes pouvant être estimés à la loupe, il est possible d'effectuer les lectures de volume à un centième de λ près. La burette capillaire de KIRK est d'une construction fort robuste et d'une manipulation aisée. La pointe de la burette plonge dans la solution à titrer, contenue par exemple dans un petit godet en porcelaine, où une fine baguette de verre assure une agitation très satisfaisante à l'aide d'un petit trembleur électromagnétique connu en Amérique au nom de «bell-buzzer».

Les titrages à l'aide de cet ensemble sont particulièrement aisés, car ils rappellent *grosso modo* les opérations titrimétriques classiques.

On peut opérer au besoin dans une atmosphère d'un gaz inerte (par exemple pour éviter l'influence de l'oxygène ou du CO₂ de l'air) en entourant le godet de titrage d'un cylindre en verre donnant accès au gaz et fermé d'un couvercle à deux ouvertures, l'une pour la pointe de la burette et l'autre pour le trembleur.

Pour la protection de l'opérateur des rayons α et β à des niveaux inférieurs à 100 millicuries, la burette et tous les accessoires nécessaires aux opérations micro- et ultra-microchimiques peuvent être montés dans une boîte hermétique, de dimensions convenables, formant vitrine et comprenant à la partie antérieure une glace de verre au plomb et deux orifices donnant passage à des gants en caoutchouc.

De cette manière l'opérateur est capable d'effectuer les manipulations à l'intérieur de ces armoires («gloved-boxes»), où une atmosphère contrôlée peut être maintenue, ou bien d'où les gaz nocifs peuvent être éliminés vers une cheminée par un ventilateur approprié.

b) *Dosage de l'azote dans les matières organiques par la méthode de Kjeldahl*. Si nous choisissons cette méthode comme exemple d'une opération titrimétrique simple et bien connue des chimistes et biologistes, nous rappelons que, à l'échelle macro, l'ammoniaque est généralement distillée et recueillie dans un excès de solution titrée d'un acide.

PARNAS et WAGNER ont montré qu'il était possible de raccourcir considérablement la durée des opérations en entraînant l'ammoniaque par la vapeur d'eau. A

¹ A. A. BENEDETTI-PICHLER, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 10, 483 (1937); *Introduction to the microtechnique of inorganic analysis* (J. Wiley & Sons, New-York 1942).

² Notes de microchimie miméographiées du Laboratoire de Chimie analytique de l'Université de Californie, Berkeley, Californie. Directeurs: B. B. CUNNINGHAM et C. W. KOCH.

³ B. B. CUNNINGHAM, Nucleonics 5, N° 5, 62 (1949).

⁴ R. C. SISCO, B. B. CUNNINGHAM et P. L. KIRK, J. Biol. Chem. 139, 1 (1941).

¹ P. L. KIRK, *Quantitative ultramicroanalysis* (J. Wiley & Sons, New-York 1950).

l'échelle macro et micro, ce principe a été mis à profit dans plusieurs appareils entre autre ceux de PARNAS et WAGNER, et de KIRK¹.

L'ammoniaque peut aussi être recueillie par diffusion, dans des cellules de CONWAY, à l'échelle micro² et ultra-micro³. Ce procédé, fréquemment employé aujourd'hui pour le dosage de l'urée, après transformation, par l'uréase, en carbonate d'ammonium, se prête également au dosage de NH₃ dans les produits de digestion des matières organiques suivant KJELDAHL.

Pour éviter le transvasement de ceux-ci, il est plus aisé de faire usage de l'appareil ultra-micro-Kjeldahl, conçu par TOMPKINS et KIRK⁴. La digestion par l'acide sulfurique s'y effectue en position verticale, la neutralisation par NaOH en position horizontale, après quoi NH₃ est recueilli par diffusion dans une petite cuillère en verre, dans laquelle s'effectue, en fin de compte, le titrage de l'acide en excès. Cette technique fort simple, adaptation élégante de la méthode de CONWAY à la méthode de KJELDAHL, se prête aisément au dosage titrimétrique de fractions de microgrammes d'azote.

7° La colorimétrie et la spectrophotométrie à l'échelle ultra-micro

La spectrophotométrie offre une troisième méthode d'analyse, à côté de la gravimétrie et de la titrimétrie, permettant d'excellents dosages à l'échelle micro et ultra-micro.

Le spectrophotomètre (modèle BECKMAN), à optique de quartz opérant avec des cellules photomultipliatrices d'électrons et amplificateur et utilisant la région ultra-violette, visible et infra-rouge du spectre (notamment de 2100 à 20000 Å) permet l'usage de cuvettes d'absorption de 5 cm de longueur et une section de diamètre minimum de 0,05 mm.

En opérant avec des cuvettes ordinaires et une épaisseur de couche liquide de 1 cm le volume de solution nécessaire pour une détermination est de l'ordre de quelques millilitres. Pour les méthodes biochimiques et chimiques ces cuvettes permettent le dosage de quantités de l'ordre du microgramme par millilitre.

En réduisant la contenance, des cuvettes de BECKMAN, LOWRY et BESSEY⁵ ont rendu la spectrophotométrie applicable à des volumes de liquide de 500 λ à 50 λ.

KIRK et ses collaborateurs ont réalisé dans le même but la construction de cuvettes en Teflon⁶, de 5 cm de longueur, 4 mm de diamètre intérieur et ayant une contenance de 0,6 ml. Elles sont adaptables au spectrophotomètre de BECKMAN grâce à un dispositif spé-

cial ajustant exactement l'axe de la cuvette à la direction des rayons lumineux.

Grâce à ces cuvettes il est possible de réaliser la spectrophotométrie de liquides non miscibles à l'eau. En extrayant la substance absorbante, contenue dans un grand volume d'eau, au moyen de 1 ml de dissolvant organique le dosage de fractions de microgrammes est aisément réalisable. Pour des quantités de liquide plus faibles encore on peut faire usage de capillaires de 2 mm de diamètre et de 5 cm de long, ayant une contenance de 160 λ. La couleur est développée au préalable à l'aide du réactif dans un flacon jaugé de 0,2 ml. La prise d'essai, suffisante pour pareil dosage, est de l'ordre de 10 μg.

Pour des quantités de liquide de l'ordre de 50 λ le Dr CRAIG, entomologue intéressé au métabolisme azoté des insectes, à Berkeley, utilise des capillaires de 0,5 mm de diamètre et de 5 cm de long, pour le dosage de NH₃ avec le bromo-crésol-pourpre en quantités de l'ordre de 0,001 γ.

Un appareil ingénieux qui a été réalisé par CRAIG et est adaptable au BECKMAN, opère avec une cellule photomultiplicatrice d'électrons (appareil mis en vente par la firme Misco) et permet entre autre le dosage de traces de Fe, Cu, Co dans certains organes d'insectes.

A cette échelle l'analyse atteint un degré que KIRK a caractérisé par l'expression «Trace analysis of almost nothing».

8° Détection et dosage de traces

Le diagramme cologarithmique *pA* — *pC* donne une représentation graphique (fig.4) des possibilités des méthodes analytiques, les plus courantes en matière de dosage ou de détection d'une substance *A* à l'état de traces en présence d'un composant *C*.

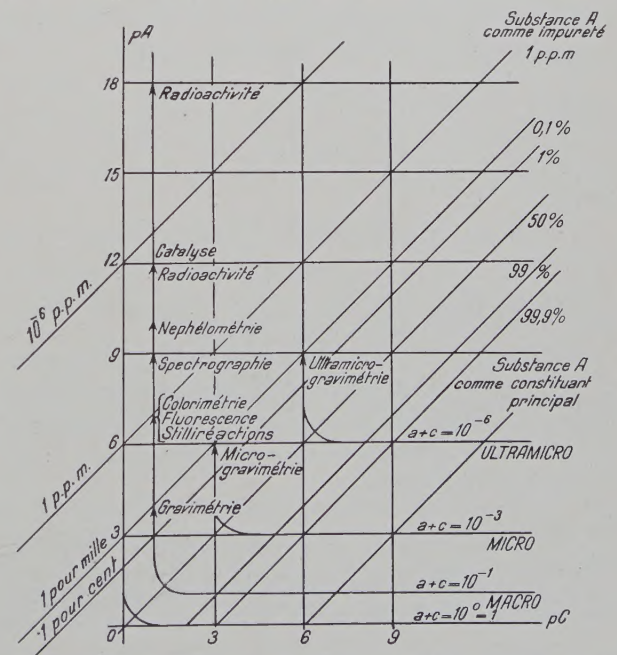


Fig. 4. Diagramme fixant la limite de sensibilité de quelques méthodes analytiques pour différentes prises d'échantillon.

¹ P. L. KIRK, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 8, 223 (1936).
² E. J. CONWAY et A. BYRNE, Biochem. J. 27, 419 (1933). — E. J. CONWAY, Microdiffusion Analysis and Volumetric Error (Grosby Lockwood, Londres 1947).
³ G. E. GIBBS et P. L. KIRK, Microchimie 16, 25 (1934); J. Amer. Chem. Soc. 62, 3525 (1940).
⁴ E. R. TOMPKINS et P. L. KIRK, J. Biol. Chem. 142, 477 (1942).
⁵ O. H. LOWRY et O. A. BESSEY, J. Biol. Chem. 163, 633 (1946).
⁶ P. L. KIRK, R. S. ROSENFELS et D. J. HANAHAN, Anal. Chem. 19, 355 (1947).

9° Une foule d'autres méthodes analytiques classiques ont pu être adaptées à l'échelle micro et ultra-micro

Ce sont: la *thermogravimétrie* à la balance à flexion (Dr C. W. KOCH à Berkeley); la *gaz-volumétrie* (Appareil de WARBURG et Appareil de VAN SLYKE); l'*analyse de gaz* (SCHOLANDER et JRWING pour le dosage de CO₂, CO, O₂, N₂ du sang); l'*électroanalyse* (depuis PREGL à HAISSINSKY et autres pour la concentration d'isotopes); la *polarographie* (HEYROVSKY, KOLTHOFF, LAITINEN sur une microgoutte); l'*ampérométrie* (LAITINEN, LINGANE, KIRK avec agitateur vibratoire); la *potentiométrie* (titrage de 2 gouttes sur électrodes de verre ou à l'aide d'électrodes bimétalliques); la *coulométrie* (SZEDELLEDY et l'école américaine: LINGANE, CAMPBELL, SWIFT, WILLARD et autres); la *spectrochimie par émission* (analyse locale); la *radiochimie* (entre autres Ecole de SEABORG à Berkeley).

Le livre de PAUL KIRK *Quantitative Ultramicro-Analysis*, paru en 1950, donne un excellent aperçu de quelques-unes de ces nouvelles techniques.

Le scepticisme, qui existait encore vers 1920 pour les méthodes de PREGL a complètement disparu aujourd'hui; il a fait place de nos jours à l'enthousiasme pour les méthodes micro et il en sera de même à l'avenir pour les méthodes ultra-micro de KIRK. Rien de tel que de les exercer soi-même pour prendre confiance après avoir surmonté les premières difficultés. Signalons aussi, sous ce rapport, les exemples cités par SOBEL et HANOK¹ en matière d'analyse ultra-micro quantitative dans les laboratoires des cliniques.

10° Microchimie et ultra-microchimie préparative

Dans ce domaine les réalisations sont également nombreuses. Citons les méthodes *micropréparatives* organiques mises au point à Graz par LIEB et son école, qui y poursuit d'ailleurs la tradition de PREGL.

En matière de préparation à l'échelle du microgramme, citons les travaux de l'école de SEABORG, CUNNINGHAM, c. s. pour la préparation et la pesée d'isotopes purs en vue de la mesure exacte de leur radioactivité.

D'autre part la préparation d'oxydes, d'halogénures, de sulfures, nitrures, carbures et siliciures, d'hydrures, de métaux, etc. a été mise au point pour l'étude d'une foule d'isotopes nouvellement isolés².

A Berkeley les élèves-chimistes préparent, à titre d'exercice, des corps organiques (par exemple certains acides) à l'échelle du microgramme, en déterminent le point de fusion, et en font l'analyse par titrage à l'aide d'une solution de base.

11° Physico-chimie à l'échelle du microgramme

La préparation de nouveaux isotopes, par exemple au cyclotron ou au bevatron (à Berkeley) ou dans les

pires à OAK RIDGE, HARWELL, FORT CHATILLON, etc., a nécessité la mise au point de méthodes physico-chimiques appropriées aux petites quantités mises en œuvre.

Citons comme référence l'article de CUNNINGHAM¹ décrivant les appareils pour la mesure de la solubilité, de la diffraction des rayons X, de la susceptibilité magnétique, de la thermochimie (microcalorimétrie), etc.

Il n'est pas douteux que ces nouvelles techniques sont appelées dans bien des cas à se substituer aux anciennes, étant donné le peu de matière, de place, de temps que leur usage comporte.

12° Conclusion générale

Depuis l'ouverture de l'ère atomique de nouvelles techniques s'imposent. Elles ont déjà atteint un développement avancé aux Etats-Unis et leur étude est nécessaire partout où on voudra créer des industries capables d'utiliser l'énergie atomique dans tout ses domaines.

Le chimiste, dans la réalisation de l'effort commun, a comme tâche, non seulement de diriger les travaux de séparation à l'échelle industrielle, mais encore de contribuer à mieux connaître la matière, et d'en poursuivre l'étude par les procédés les plus directs, parmi lesquelles les opérations à petite échelle présentent des avantages appréciables.

Summary

Since the end of the last century new techniques have been developed to make it possible to perform chemical experiments on a smaller and smaller scale.

The historical development of *gravimetry* at a macro-, micro- and ultramicro-level, is represented in a logarithmic diagram, correlating the sensitivity of the balance, the amount of compound to be evaluated and the weight of sample normally taken.

Reference is made to the techniques of micro- and ultramicro-gravimetry used in the laboratory of B. B. CUNNINGHAM at the University of California (Berkeley), and attention is directed to exercises made by graduate students in this laboratory.

Titrimetry, with amounts of the microliter, is easy to make, for instance by means of the pipettes and burettes designed by P. KIRK.

Ultramicro Kjeldahl determinations, for instance, are very useful for biological purposes; they can be effected by the diffusion technique of CONWAY, without transfer of solution. On the other hand, for the manipulation of radioactive compounds, operations in "gloved boxes" assure a satisfactory protection at a level lower than 100 millicuries.

At a ultramicro level, *spectrophotometry* can be used with success and is a very promising method today.

The sensitivity in the detection and evaluation of traces by means of different analytical procedures is compared graphically.

A review is given of some analytical, preparative and physico-chemical methods used in micro- and ultramicro-chemistry.

¹ A. E. SOBEL et A. HANOK, *Mikrochemie* 39, 51 (1952).

² B. B. CUNNINGHAM, *Nucleonics* 5, N° 5, 62 (1949).

¹ B. B. CUNNINGHAM, *Nucleonics* 5, N° 5, 62 (1949).

Kurzer Überblick über die Beziehungen der Reflexversuche mit der elektrischen Methodik bei Mensch und Tier

Von P. HOFFMANN, Freiburg i. Br.

Die Untersuchung von Reflexen hat neben rein praktischen Zwecken stets die besondere Bedeutung gehabt, dass man vom Reflexablauf auf die Funktion zentraler Teile schloss. Man beschäftigte sich also im Grunde mit der allgemeinen Physiologie der Nervenzentren, wie es ja auch in der Darstellung von WUNDT¹ über seine Reflexversuche durch den Titel *Zur Mechanik der Nervenzentren* dokumentiert ist. Solange eine direkte Untersuchung der zentralen grauen Substanz nicht tunlich schien oder nicht gewagt wurde, war dies der gegebene Weg, die Zentralfunktion zu erforschen.

Die Entwicklung der Methodik hatte ERLANGER und GASSER ermöglicht, in klassischen Untersuchungen die elektrischen Erscheinungen in den peripheren Nerven mit einer bis dahin unerhörten Genauigkeit festzustellen. Man ging dann zur Untersuchung einzelner peripherer Axone über und wagte sich schliesslich mit grosser Kühnheit an die zentralen Teile direkt, ja an die einzelne Zelle selbst (ECCLES²). Man übertrug also die Gasser- und Erlangerschen Untersuchungen auf die zentralen Mechanismen. Das Fortschreiten auf diesem Wege erfolgte aber nicht sprungweise, sondern vielmehr durchaus systematisch schrittweise. Von der mechanischen Untersuchung der Reflexe kam man zur elektrischen und gewann dadurch schon eine Reihe neuer Möglichkeiten. Man konnte statt der Kontraktion die Innervation, die diese hervorrief, ablesen. Und da aus vorhergegangenen Untersuchungen bekannt war, dass die Übertragung: motorische Nervenfasern-Muskelfaser nach der Regel 1:1 erfolge (wenn nicht besondere pathologische Zustände bestehen [GARTEN³]), so konnte man bereits aus den Aktionsströmen des Muskels auf die Funktion der Nervenzellen schliessen und sich so Vorstellungen über die Wirkung zentraler Mechanismen machen. Und diese Vorstellungen haben sich im Verlauf der Zeit als recht tragfähig erwiesen. So konnte in der Reflexlehre festgelegt werden, dass es Reflexbögen mit verschiedener Funktion gibt, die offensichtlich auch verschiedene anatomische Leitungsbahnen haben⁴. Verfasser hat diese Lehre dadurch am strengsten durchgeführt, dass er die Reflexe der Ske-

lettmuskeln in Eigenreflexe (ER) und Fremdreflexe teilte. Es kann heute keinem Zweifel unterliegen, dass diese Reflexe als monosynaptische und polysynaptische bezeichnet und voneinander getrennt werden können. Als Beweis für die monosynaptische Übertragung des ER hatte ich seinerzeit das anatomische Bild von LEHNHOSSEK angeführt, welches zeigt, dass es unzweifelhaft Kollaterale der Fasern der hinteren Wurzeln gibt, die direkt an die Vorderhornzellen treten. Die unmittelbare Feststellung der «Synapsenzeit» durch LORENTE DE NO¹ auf 0,5 bis 0,9 ms war weiter durchaus grundlegend, denn nun konnte auch physiologisch der unmittelbare Beweis geliefert werden, dass es sich um monosynaptische Reflexe handle. Wenn ich dafür den Namen «Eigenreflexe» vorgeschlagen hatte, so war dies eine Bezeichnung aus den physiologischen Eigenschaften, die sie deutlich von den Fremdreflexen trennten.

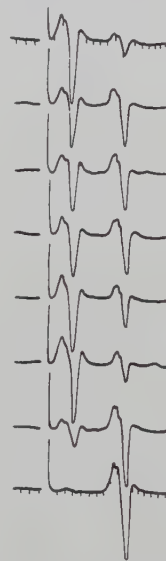


Abb. 1. Auslösung des Achillessehnenreflexes durch Reiz auf den Nervus tibialis des Menschen. Von links nach rechts zu lesen (gilt für alle Kurven). Zuerst Reizeinbruch, danach Aktionsstrom der indirekten Zuckung, am Schluss der des Reflexes. Verschiedene Reizstärken. Sind diese hoch, so ist die indirekte Zuckung gross, die reflektorische relativ klein und umgekehrt. Die feinen Striche in den Kurven haben 4 ms Abstand.

Verfasser hatte seine Ansichten auf Grund von Experimenten am Menschen entwickelt. Diese haben neben den selbstverständlichen Beschränkungen den Vorteil, dass einmal der Zustand der Versuchsperson stets

¹ W. WUNDT, *Zur Mechanik der Nerven und Nervenzentren* (Stuttgart 1876).

² J. C. ECCLES, Symposium on the spinal cord (London 26. 2. 1952).

³ S. GARTEN, *Z. Biol.* 58, 420 (1912).

⁴ P. HOFFMANN, *Z. Biol.* 69, 517 (1919); *Untersuchungen über Eigenreflexe menschlicher Muskeln* (Springer, Berlin 1922); *Z. Biol.* 72, 101 (1920 [b]); *Erg. Physiol.* 36, 15 (1934). – B. RENSHAW, *Activity in the simplest spinal reflex pathways*, *J. Neurophysiol.* 3, 471 (1940).

¹ R. LORENTE DE NO, *J. Neurophysiol.* 1, 187 (1938); 2, 402 (1939).

der gleiche ist, ferner dass der Einfluss der willkürlichen Erregung nach Wunsch eingestellt werden kann, indem die Versuchsperson eine bestimmte Kontraktionsstärke festhält. Besonders eine Versuchsreihe, die ich 1928 mit KELLER¹ durchführte, erscheint sehr eindrucksvoll (Abb. 1). Schon 1910 hatte ich finden können, dass es möglich ist, bei den Sehnenreflexen den Schlag auf die Sehne durch einen Induktionsschlag auf den Nerven zu ersetzen. Man erhält dann folgende Erscheinungen, die sich bei allen späteren Versuchen stets bestätigen liessen. Bei geringer Reizstärke entsteht zuerst eine reflektorische Zuckung des Muskels (am besten geeignet: Reiz am Nervus tibialis und Ableitung der Aktionsströme von Gastrocnemius-Soleus). Beweis, dass die motosensiblen Fasern meist leichter erregbar sind als die motorischen (dies ist nicht bei allen Versuchspersonen der Fall; ein kleinerer Teil der Menschen hat, wie die Versuche ergeben, motorische Fasern, die leichter reizbar sind²). Steigert man den Reiz, so tritt dann auch die indirekte Zuckung auf, und die Aktionsströme dieser wie die der reflektorischen Zuckung sind überraschend ähnlich³. Bei weiterer Steigerung wird die indirekte Zuckung grösser bis zum Maximum, und die reflektorische nimmt bis fast zum Verschwinden ab. Gleichzeitige willkürliche Kontraktion steigert die Eigenreflexe sehr stark⁴. Man kann nun deutlich erkennen, dass bei intensiver gleichzeitiger Kontraktion zwischen der indirekten Zuckung und der reflektorischen noch Impulse zum Muskel laufen, falls der reflexerzeugende Reiz schwach ist. Nähert er sich dem maximalen, so verschwinden diese Muskelaktionen, weil die Nervenenerregungen auf dem Wege vom Zentrum zur Peripherie von den entgegenkommenden antidromen blockiert werden. Denn im Neuron einander begegnende Erregungswellen können nicht übereinander hinweglaufen⁵. Wenn der antidrome Reiz also stark ist und den orthodromen Reflexreiz in der Faser trifft, so kommt es zu einer völligen Blockierung⁶.

Die Eigenreflexe sind identisch mit der Gruppe der Sehnenreflexe, und es ist nun auch wieder von LLOYD⁷ darauf hingewiesen worden, dass die monosynaptischen Reflexe mit den myotatischen Reflexen identisch seien, wobei wieder myotatische Reflexe identisch waren mit Eigenreflexen.

Die anbei gegebene Übersicht der Besonderheiten der Eigenreflexe zeigt, dass aus der Bezeichnung monosynaptische Reflexe durchaus nicht die Verschiedenheit sichtbar wird, die *de facto* zwischen Eigenreflexen und Fremdreflexen besteht. Der an sich so ungemein einleuchtende Versuch, in dem nachgewiesen wird, dass

auf einen peripheren Reiz hin mit verschiedener Latenz eine kurze, gut geballte Erregung als monosynaptischer Reflex und nach diesem ein länger auseinandergezogener Reflex als polysynaptische Erregung folgt, zeigt eben nur eine enge Seite des Phänomens.

Eigenreflexe =
Sehnenreflexe =
myotatische Reflexe =
monosynaptische Reflexe

Fremdreflexe =
polysynaptische Reflexe

Reflexzeit kurz, von der Reizstärke unabhängig

Reflexzeit länger, von der Reizstärke abhängig

Temporale Summation, wenn überhaupt vorhanden, sehr unbedeutend

Temporale Summation sehr bedeutend, sich eventuell über viele Sekunden erstreckend

Die Wirkung bleibt segmental und seitlich begrenzt

Die Wirkung ergreift in allen Fällen viele Segmente und ist meist nicht seitenbeschränkt

Schwer ermüdbar (schwer adaptionsfähig)

Leicht ermüdbar (leicht adaptionsfähig)

Unbewusst: die Versuchsperson kann in den meisten Fällen selbst gar nicht sagen, ob der Effekt eingetreten sei oder nicht

Die Reflexreaktion wird bewusst empfunden

Zur Auslösung kommt der Reflex durch die Reizung besonders empfindlicher, schnell leitender Fasern (Reizschwelle niedriger)

Reizschwelle höher

Untergeordnet

Übergeordnet

Abhängigkeit von der Form des Reizes, insofern sie mit dieser weitgehend wechseln

Der Reflexerfolg ist von der Art des Reizes weit- aus weniger abhängig

Es ergibt sich mithin eine eigenartige Hierarchie der Reflexe, die sich in dem Ausdrucke «monosynaptisch und polysynaptisch» durchaus nicht ausspricht und die bei den Tierversuchen auch nicht entsprechend deutlich wird.

Diese aufgezählten Charakteristika der beiden Reflextypen sind nicht völlig voneinander unabhängig. Zum Beispiel wird naturgemäss eine Reflexreaktion, die den Reiz gewissermassen abbildet (HOFFMANN und KELLER¹), die also ohne wesentliche Veränderung durch das Zentralnervensystem durchläuft, nur eine geringe Selbständigkeit zeigen dürfen. Der untergeordnete Effekt *darf* eine solche nicht haben. Sie ist dem übergeordneten vorbehalten, während der untergeordnete nur die ganz momentanen, abhängigen Dienste tut.

¹ P. HOFFMANN und J. KELLER, Z. Biol. 87, 327, 527 (1928).

¹ P. HOFFMANN und J. KELLER, Z. Biol. 87, 327, 527 (1928).

² E. SCHENCK, Pflügers Arch. 253, 286 (1951).

³ M. SCHNEIDER, Z. Biol. 89, 499 (1930). – W. EICHLER, P. HOFFMANN und M. SCHNEIDER, Z. Biol. 95, 307 (1934).

⁴ P. HOFFMANN, Z. Biol. 68, 351 (1918).

⁵ P. HOFFMANN, Z. Biol. 64, 113 (1914).

⁶ J. C. ECCLES, British Medical Bulletin 6, Nr. 4, 304 (1950).

⁷ D. P. C. LLOYD, J. Neurophysiol. 6, 111, 143, 293, 317 (1943); 6, 293 (1943); 9, 421 (1946).

Bei den modernen Versuchen über monosynaptische Reflexe werden diese durch kurze, elektrische Reize auf den Nerven ausgelöst (Thyratronentladung, Induktionsschlag). Demgemäss erhält man als reflektorische Reaktion auch nur einen kurzen, einer Einzelerregung des Nerven entsprechenden Aktionsstrom. Diese Vorstellung gibt aber nur eine sehr enge Ansicht des monosynaptischen Reflexes. Denn wenn man nun durch Vibration des Muskels eine Reizreihe für Eigenreflexe setzt, kann man bewirken, dass die willkürliche Kontraktion aus einer Kette von Eigenreflexen besteht¹. Es ist dieser Vibrationsversuch, der zuerst von PREISENDÖRFER² in meinem Laboratorium durchgeführt wurde, sehr merkwürdig, insofern er zeigt, dass der Eigenreflex die willkürliche Innervation zu ersetzen vermag (Abb. 2). Man beherrscht dabei die Bewegung

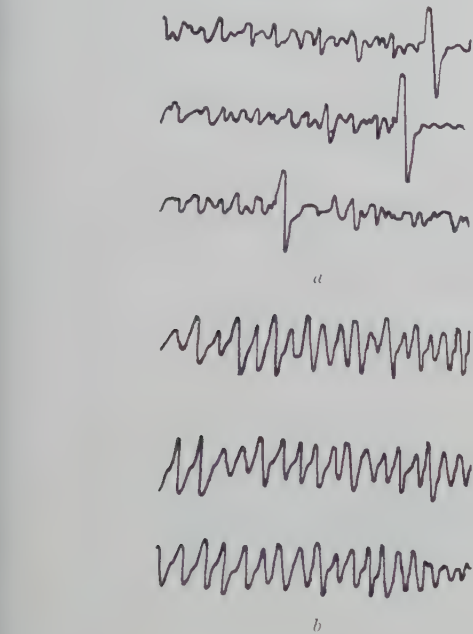


Abb. 2. Wirkung des Vibrationsversuches. *a* Aktionsströme des Musculus biceps brachii bei Belastung des linken Armes mit 2 kg ohne Vibration. Es wird im Verlauf der Kurven ein Vorderarmperiostreflex ausgelöst, der an dem charakteristischen Aktionsstrom erkennbar ist. *b* Vibration in der Frequenz von 45/s. Die Synchronisierung der Innervation bedingt, obgleich die Muskelspannung nicht grösser ist als bei *a*, wesentlich höhere Amplitude der Aktionsströme.

genau so gut wie ohne Vibration. Die Aktionsstromkurve zeigt aber, dass die Innervation des Muskels durch die Vibration weitgehend synchronisiert ist. Die Willkür beherrscht also die Innervation, ganz abgesehen von dem Rhythmus der einzelnen Neurone bzw. motorischen Einheiten. Sie gibt nur den Gesamteffekt an, die Verteilung erfolgt durch die monosynaptischen Reflexe. Man erkennt hier also Besonderheiten, die die Kurven der Aktionsströme der Wurzeln gar nicht erwarten lassen. Nicht die kurze, geballte Salve von Erregungen ist charakteristisch für die monosynaptischen

Reflexe, sondern vielmehr gerade der dauernde Strom, der durch eine bestimmte Muskelspannung hervorgerufen wird. Die reflektorische Erregung passt sich der Reizart, wie betont, an, so dass eben ein kurzer Reiz auch mit einem entsprechend kurzen Aktionsstrom verbunden ist, woher sich die kurzen charakteristischen Stromstösse, die reflektorisch in den vorderen Wurzeln entstehen, erklären.

Wenn man die Vorstellung entwickelt, dass die willkürliche Innervation nur gewissermassen die Grundmenge festlegt, dass die Verteilung der Salven von Erregungen, die aus dem Rückenmark gesandt werden, in hohem Masse den monosynaptischen Reflexen überlassen wird, so ergibt sich als naheliegend das Schema eines Reservoirs, das von der willkürlichen Erregung gespeist wird, dessen Ablauf zu der Muskulatur aber weitgehend den monosynaptischen Reflexen untersteht. Diese Vorstellung von Auffüllung und Entleerung des Reservoirs führt dazu, anzunehmen, dass nach intensiver plötzlicher Entleerung (wie sie also durch eine geballte Salve sensibler Erregungen im konkreten Experiment hervorgerufen werden kann) das Reservoir erschöpft sein könnte und einer gewissen Zeit zur Wiederauffüllung bedarf. Und tatsächlich findet man einen derartigen Vorgang, die von mir 1920 beschriebene Hemmungsperiode (silent period)¹.

Die Vorstellung des Reservoirs kommt der Ansicht von SHERRINGTON über den zentralen Erregungszustand bzw. von VERWORN über die zentrale Erregbarkeitssteigerung, die ja lange Zeit eine erhebliche Rolle in der Neurophysiologie gespielt haben, sehr entgegen. Auch hier liegt die Idee der Aufladung eines Kondensators zugrunde, der sich entlädt, wenn eine Erregung in das Axon abgesandt wird oder, wie häufig gesagt wird, wenn das Neuron «feuert». Über die Silent period, die sich stets an einen Eigenreflex anschliesst, und überhaupt über die nach einem solchen auftretenden Hemmungen ist viel geschrieben worden, und es hat sich ein umfassendes Material gesammelt, das keineswegs leicht zu sichten ist, das aber beträchtlichem Interesse begegnet, da man eben daraus auf die zentrale Funktion zu schliessen berechtigt ist.

Verfasser versuchte, diese Hemmung in Beziehung zu bringen mit der Wiederaufladung der Nervenzellen vor dem Abschiessen der nächsten Erregung, und prüfte die Erregbarkeit des Eigenreflexbogens (monosynaptischen Reflexbogens) nach dem Ablauf eines Reflexes². Es ergab sich das mich damals erstaunende Resultat, dass der Reflexbogen eine sehr lange Refraktärperiode zu haben schien. Für etwa 100 ms und sogar mehr war die Leitfähigkeit für einen zweiten Reflex stark herabgesetzt. Dabei war diese Subnormalperiode (um den Ausdruck Refraktärstadium zu vermeiden) durchaus abhängig von der Stärke der gleichzeitigen Innervation

¹ J. SOMMER, Z. Neur. 172, 500 (1941).

² F. PREISENDÖRFER, Z. Biol. 70, 505 (1919).

¹ P. HOFFMANN, Z. Biol. 70, 515 (1920).

² P. HOFFMANN, Z. Biol. 81, 37 (1924).

des Muskels. Dies hat sich in später von SOMMER¹ angestellten Versuchen durchaus bestätigen lassen. Bei starker Innervation ist die Subnormalperiode verkürzt, bei schwacher ist sie erheblich verlängert. Die Dauer der Silent period verhält sich genau so abhängig von der «Grundinnervation», auf die die Reflexe gesetzt werden (SCHOEN²).

Die Silent period wurde nun auch in zahlreichen Tierversuchen gefunden, allerdings muss man sagen, dass sie hier meist weitaus weniger eindrucksvoll ist als in den Versuchen am Menschen. Vor allem kann man ihre Abhängigkeit von der Innervation des Muskels nicht studieren, und man bekommt deswegen das nicht ausreichende Bild, dass eine Subnormalperiode, die nach einem monosynaptischen Reflex einsetzt und die sich kurvenmässig genau mit Hilfe der Messung der Aktionsströme darstellen lässt, eine allgemeine Gültigkeit für die Erregbarkeit des Rückenmarks bzw. der Motoneurone habe. Es handelt sich bei jedem Versuch nur um die im speziellen Fall gerade herrschenden Umstände, beim Menschen kann ich, je nach Einschalten der Innervation, durchaus verschiedene Kurven für die Wiederherstellung der Erregbarkeit finden. Die zahlreichen an Tieren unter Dezerebration oder Barbituratnarkose angestellten Versuche haben mithin nur im einzelnen einen Wert, insofern sie immer nur den zufälligen Stand der Erregung des Präparats widerspiegeln. Allerdings zeigten bereits 1939 Versuche von SOMMER³, dass die Muskelbewegung in der Peripherie eine intensive Hemmung der Eigenreflexe hervorruft. Verfasser hatte mit HANSEN⁴ festgestellt, dass bei plötzlicher Entspannung des Muskels reflektorisch eine Verminderung der Innervation entsteht. Wir nahmen damals an, dass es sich einfach um einen Ausfall der peripheren Impulse für die ER handle, wie FULTON und PI-SUÑER⁵ es 1928 für das Entstehen der Silent period annehmen. SOMMER konnte aber dadurch, dass er die Entlastung des Muskels bei gleichzeitiger Vibration durchführte, erweisen, dass ein wirklicher Hemmungsreflex eintritt. Diese Umstände sind in ihrer Tragweite erst durch die eingehenden Versuche von GRANIT⁶ über autogenetische Hemmung erkannt worden. Für das Zustandekommen der Silent period ist nun ersichtlich nicht nur ein Faktor in Frage kommend, sondern mehrere: 1. der mechanisch durch Entlastung der Muskelspindeln entstehende Ausfall des sensiblen Zustroms; 2. die durch diese Entlastung hervorgerufene Hemmung im Sinne GRANITS; 3. die zentrale Subnormalphase, die sich in zahlreichen Experimenten am Rückenmark direkt erweisen liess (ECCLES und Mit-

arbeiter¹). Verfasser legte anfänglich den wesentlichen Wert auf die zentrale Subnormalphase, doch handelt es sich zweifellos um mehrere Faktoren.

Immerhin wiesen diese Versuche, die bis 1924 zurückgehen, darauf hin, dass die Vorgänge im Zentrum verhältnismässig auffällig langsam seien. In starkem Gegensatz hierzu stand die Vorstellung von DE NO², der annimmt, dass der zentrale Erregungszustand durch gehäufte Wiederreizung in Neuronenkreisen sich aufbaue, mithin ein das einzelne Element gar nicht direkt betreffender Zustand sei, dass ferner die eigentliche Refraktärperiode des Zellsomas ausserordentlich kurz (etwa 2 ms) sei, was durch Versuche von JUNG und TÖNNIES³ erwiesen wird.

Es verhält sich also das Zentrum sehr ähnlich wie das periphere Neuron, insofern eine kurze Refraktärperiode besteht, dem eine ebenfalls kurze Periode gesteigerter Erregbarkeit folgt, an die sich eine relativ sehr lange und starke Subnormalphase anschliesst. Auf die Ähnlichkeit der Reaktion der zentralen und peripheren Elemente haben bereits GASSER und GRUNDFEST⁴ aufmerksam gemacht.

Die Untersuchungen der Aktionspotentiale der Nervenzellenhäufen bzw. der Nervenzellen selbst weisen darauf hin, dass die Erregungsvorgänge tatsächlich verhältnismässig sehr langsam ablaufen (im Verlauf bis zu 100 ms). Es wird also doch mit grosser Wahrscheinlichkeit bei diesen zentralen Vorgängen ein Prozess der Subnormalität eintreten, der neben anderen Faktoren zu der Silent period und zu der Subnormalphase führt. Das Bild des zentralen Erregungszustandes bzw. Reservoirs ist nicht völlig richtig, gibt aber in erster Annäherung mögliche Vorstellungen. Wenn man nämlich von dieser absieht, so gerät man sofort in die grösste Schwierigkeit, die Umstände einigermaßen unter einen verständlichen Gesichtspunkt zu bringen, vor allem die sehr deutliche Einwirkung der willkürlichen Innervation auf die Erregung der Motoneurone zu erklären.

Die Umstände der zentralen Hemmung beim Menschen werden nun noch durch eine andere Art von Versuchen beleuchtet, die nicht ganz leicht mit den beschriebenen in ein System zu bringen sind. Diese Art Versuche können am besten vom Zungen-Kiefer-Reflex abgeleitet werden. Dieser Reflex, der beim Tier, wie Katze und Hund, in der Öffnung des Maules auf einen Reiz, der die Zunge trifft, besteht, kann beim Menschen zwar nicht als Kontraktion der Mundöffner festgestellt werden, doch zeigt sich mit grosser Regelmässigkeit in den Antagonisten eine Hemmung⁵. Man kann

¹ J. SOMMER, Z. Biol. 99, 514 (1939).

² H. SCHOEN, Pflügers Arch. 254, 205 (1951).

³ J. SOMMER, Dtsch. Z. Nervenheilk. 150, 83 (1939 [b]).

⁴ K. HANSEN und P. HOFFMANN, Z. Biol. 75, 293 (1922).

⁵ J. F. FULTON und J. PI-SUÑER, Amer. J. Physiol. 83, 554 (1928).

⁶ R. GRANIT, EEG. Clin. Neurophysiol. 2, 417 (1950); J. Neurophysiol. 13, 351 (1950).

¹ C. McC. BROOKS, C. B. B. DOWNMANN und J. C. ECCLES, J. Neurophysiol. 13, 9 (1950); 13, 157 (1950).

² R. LORENTE DE NO, J. Neurophysiol. 1, 187 (1938); 2, 402 (1939).

³ J. F. TÖNNIES und R. JUNG, Pflügers Arch. 250, 667 (1948).

⁴ J. S. GASSER und H. GRUNDFEST, Amer. J. Physiol. 117, 113 (1936).

⁵ P. HOFFMANN und J. F. TÖNNIES, Pflügers Arch. 250, 103 (1948)

den Reflex also mit Leichtigkeit an der Hemmung zum Beispiel im Masseter erkennen. Ebenso lässt sich ein Korrelat des Beugereflexes in einer stets auftretenden Hemmung in den Streckern des Armes oder Beines finden¹. Es ist merkwürdig, dass man willkürlich zwar das Zustandekommen des positiven Teils der Reflexe (Kontraktion der Agonisten) verhindern kann, nicht aber die Hemmung, die nur durch eine danach auftretende verstärkte Innervation (eine Art Rebound) kompensiert wird. Löst man sie durch einen einzelnen Induktionsschlag aus, indem dieser Hemmungsreflex

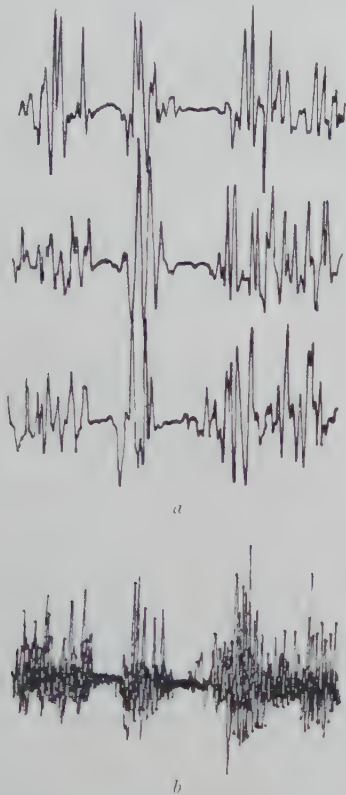


Abb. 3. Fremdrelektorische Hemmung der Innervation des Musculus triceps beim Menschen durch Induktionsschlag auf die Hand. Aktionsströme des Musculus triceps. *a* an drei Einzelversuchen, *b* fünf Versuche im Kipp übereinander aufgenommen. 1 s = 230 mm. Man erkennt sehr deutlich die eigentümlich gespaltene Hemmung der Innervation.

also eine geballte Salve von Erregungswellen nach dem Zentrum sendet, so fällt in der Innervation ein einzelner Neuronentakt aus (SCHENCK²). Die auftretende Hemmung hat die Merkwürdigkeit, dass sie zwei Teile hat, die durch eine Zwischenerregung (Zwischenschlag) deutlich getrennt sind. Insofern unterscheidet sie sich charakteristisch von der Silent period, die niemals einen Zwischenschlag zeigt (Abb. 3). Dass es sich bei dieser Hemmung um eine fremdrelektorische handelt, lässt sich auch dadurch erweisen, dass sie eine deutlich viel grössere Latenzzeit hat als die Silent period. Zu

ihrer Erzeugung sind etwas schmerzhaft Reize besonders geeignet. Auch diese fremdrelektorische Hemmung wird in ihrer Dauer von der vorhandenen Grundinnervation beeinflusst. Je stärker die Innervation ist, die sie unterbricht, um so kürzer ist die Hemmung. Die Wirkung kann so lang dauern, dass unterdessen eine willkürliche Hemmung eintreten kann, und man kann deutlich erkennen, dass diese um so später an die reflektorische sich anschliesst, je länger der Weg vom Gehirn zu den reflektorisch gehemmten Vordersäulenzellen ist¹.

Während dieser fremdrelektorischen Hemmung sind nun die willkürlichen Impulse ebenso gehemmt wie die eigenreflektorischen. Auch die Hemmung dieser letzteren zeigt die charakteristische Zweiteilung (SCHENCK²). Die Art der Wiedererholung ist durchaus der entsprechend, die wir von der Silent period kennen. Man hat also entschieden das Gefühl, als ob der Hemmungsmechanismus an der Vorderhornzelle angreife und in dieser einen Vorgang auslöse, der nach Art einer Schwingung abläuft, wobei die Dauer dieser Schwingung von einem zentralen Mechanismus abhängt, der allerdings von der Willkür beeinflusst werden kann.

Die Übersicht zeigt, wenn sie auch auf viele Einzelheiten bewusst nicht eingeht, wie die Versuche am Menschen geeignet sind, die Resultate der Tierversuche weitgehend zu ergänzen und wie erst die Verbindung beider eine volle Ansicht von dem derzeitigen Stande der Dinge gibt.

Summary

The registration of the action potentials of muscle, nerve centres and finally nerve cells has produced many essential results during the last decade. But it can be shown, that quite a number of these results were obtained in experiments on the action currents of human muscles 30 years ago. In some respects the human experiments are of even greater significance than those on animals. The so-called monosynaptic reflexes are essentially identical with a group of reflexes which were described by the author thirty years ago and named "Eigenreflexe". At that time the monosynaptic quality of those reflexes was derived merely from anatomical data (direct collaterals from the posterior roots to the anterior horn cells, Lenhossék). The synapse-time was estimated only as probably lying near 1 msec. These monosynaptic "Eigenreflexe" are subordinated in characteristic manner to the polysynaptic reflexes and especially to the voluntary movements. The voluntary innervation as a whole is not changed by the monosynaptic reflexes but it is only distributed in a special way, as is clearly demonstrated by the "Vibrationsversuch." The experiments on the inhibition following the monosynaptic reflexes (silent period) and on the subnormal phase of 30 years ago are compared with the modern results and it is shown, that the experiments on man and on animals supplement one another.

¹ P. HOFFMANN, Neurology (USA.), im Druck.

² E. SCHENCK und B. LAUCK-KOEHLER, Pflügers Arch. 252, 423 (1949).

¹ P. HOFFMANN, E. SCHENCK und J. F. TÖNNIES, Pflügers Arch. 250, 724 (1948).

² E. SCHENCK, Pflügers Arch. 253, 286 (1951).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

The Dielectric Properties of Two-Body Systems

The dielectric constant (ϵ) or conductivity (σ) of a heterogeneous system containing homogeneous particles uniformly dispersed in a homogeneous medium can generally be represented very well by the well-known theoretical formula¹

$$\frac{k - k_1}{k + x k_1} = \rho \frac{k_2 - k_1}{k_2 + x k_1} \quad (1)$$

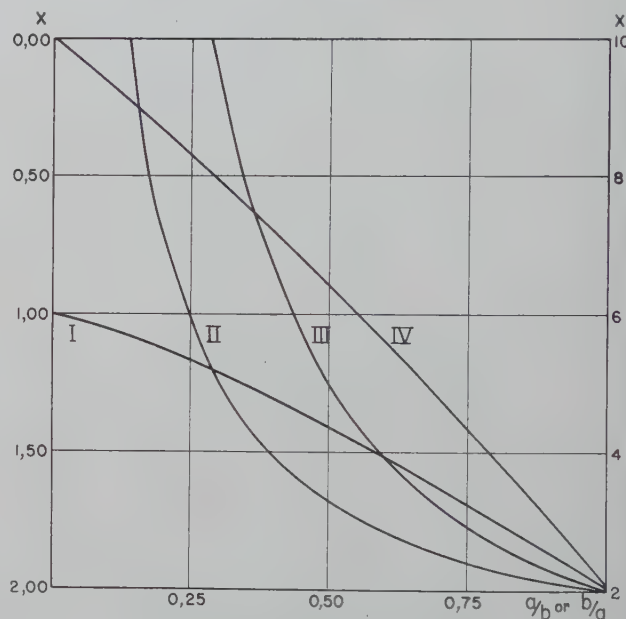
k stands for ϵ or σ ; ρ is the fractional volume of the suspended phase, and the subindices 1 and 2 refer to suspending and suspended phases respectively. The "form factor" x is independent of ρ , but depends generally on k_2/k_1 . The formula refers to systems in which the conductivities or dielectric constants respectively of the two phases are negligible. When this condition does not apply, the formula is still valid, when

$$\sigma_2/\sigma_1 = \epsilon_2/\epsilon_1.$$

Otherwise, the calculation of σ and ϵ is much more complicated, the system showing the MAXWELL-WAGNER type of dispersion. Its dielectric properties were calculated by WAGNER² for a dilute suspension of spheres on basis of the same principles as were employed in deriving (1). This note describes a further development of this subject, particularly applicable to biological cellular materials at ultra high frequencies³.

The general solution of the problem can be stated very simply for, by applying the theoretical procedure used in deriving (1) to a suspension in an alternating field, it will be recognized that this formula is valid also when the k^s are complex e.g. $k = \sigma + j\frac{\epsilon}{\omega}n$ (n : cycles per second). The formulae for σ and ϵ in terms of the σ_p^s and

ϵ_p^s and the practically more important formulae for σ_2 and ϵ_2 in terms of σ , ϵ , σ_1 and ϵ_1 can be obtained therefore by separating the real and imaginary terms in this generalized formula. The value of x is already known¹ for particles of ellipsoidal form, which provides a satisfactory basis for most biological applications.



Form factor x for a suspension of parallel ellipsoids of revolution, half axis a , b .

b parallel to electrodes $\begin{cases} b > a: \text{Curve I, left scale,} \\ b < a: \text{Curve II, right scale,} \end{cases}$
 b perpendicular to electrodes $\begin{cases} b > a: \text{Curve III, right scale,} \\ b < a: \text{Curve IV, left scale.} \end{cases}$

Since x depends on k_2/k_1 , it is generally complex. For our present purpose, we are, however, chiefly interested

¹ H. FRICKE, Phys. Rev. 24, 575 (1924); Physics 1, 106 (1931).

¹ J. C. MAXWELL, *Treatise on Electricity and Magnetism* (Clarendon Press, Oxford, 1937), p. 313. - O. WIENER, Abh. Königl. Sächs. ges. Wiss. Math. Phys. K. 32, 509 (1912). - H. FRICKE, Phys. Rev. 24, 575 (1924); Physics 1, 106 (1931).

² K. W. WAGNER, Ann. Phys. 40, 817 (1913); Arch. Elektrotech. 2, 371 (1914).

³ B. RAJEWSKY and H. SCHWAN, Naturwissenschaften 35, 315 (1948). - H. F. COOK, Nature 168, 247 (1951); Brit. J. Appl. Phys. 2, 295 (1951).

$$\sigma/\sigma_1 = \frac{A(\sigma_2/\sigma_1) B(\sigma_2/\sigma_1) + A(\epsilon_2/\epsilon_1) B(\epsilon_2/\epsilon_1) n^2/4 + (x+1)^2 \rho \epsilon_1^2 (\sigma_2/\sigma_1 - \epsilon_2/\epsilon_1) n^2/4}{[B(\sigma_2/\sigma_1)]^2 + [B(\epsilon_2/\epsilon_1)]^2 n^2/4} \quad (2)$$

$$\epsilon/\epsilon_1 = \frac{A(\sigma_2/\sigma_1) B(\sigma_2/\sigma_1) + A(\epsilon_2/\epsilon_1) B(\epsilon_2/\epsilon_1) n^2/4 - (x+1)^2 \rho \sigma_1^2 (\sigma_2/\sigma_1 - \epsilon_2/\epsilon_1)}{[B(\sigma_2/\sigma_1)]^2 + [B(\epsilon_2/\epsilon_1)]^2 n^2/4} \quad (3)$$

$$\sigma_2/\sigma_1 = \frac{C(\sigma/\sigma_1) D(\sigma/\sigma_1) + C(\epsilon/\epsilon_1) D(\epsilon/\epsilon_1) n^2/4 + (x+1)^2 \rho \epsilon_1^2 (\sigma/\sigma_1 - \epsilon/\epsilon_1) n^2/4}{[D(\sigma/\sigma_1)]^2 + [D(\epsilon/\epsilon_1)]^2 n^2/4} \quad (4)$$

$$\epsilon_2/\epsilon_1 = \frac{C(\sigma/\sigma_1) D(\sigma/\sigma_1) + C(\epsilon/\epsilon_1) D(\epsilon/\epsilon_1) n^2/4 - (x+1)^2 \rho \sigma_1^2 (\sigma/\sigma_1 - \epsilon/\epsilon_1)}{[D(\sigma/\sigma_1)]^2 + [D(\epsilon/\epsilon_1)]^2 n^2/4} \quad (5)$$

$$A(k_2/k_1) = (k_2 + x k_1) + x \rho (k_2 - k_1);$$

$$B(k_2/k_1) = (k_2 + x k_1) - \rho (k_2 - k_1);$$

$$C(k/k_1) = x(k - k_1) + \rho (k + x k_1);$$

$$D(k/k_1) = -(k - k_1) + \rho (k + x k_1).$$

in cases for which κ is real. We obtain, then, the formulae 2–5.

These formulae are valid for particles of spherical form, in which case $\kappa = 2^1$. They are valid also if the form is non-spherical, provided the particles are all oriented in the same direction. If the particles are ellipsoids (half axis: a, b, c) the value of κ can be obtained in a similar manner to that used earlier in treating the case of random orientation². When a is perpendicular to the electrodes, the solution is:

$$\kappa = \frac{2 - abcL_a}{abcL_a}$$

where

$$L_a = \int_0^\infty \frac{d\lambda}{(a^2 + \lambda) \sqrt{(a^2 + \lambda)(b^2 + \lambda)(c^2 + \lambda)}}$$

The Figure records κ for ellipsoids of revolution of different axis ratios, arranged with the axis of revolution either parallel with or perpendicular to the electrodes. A limiting case is that of cylinders arranged parallel to the electrodes, for which $\kappa = 1$.

In the ultrahigh frequency range of particular biological interest, the effect of the conductances is small and we have then:

$$\sigma_2/\sigma_1 = \frac{C(\varepsilon\varepsilon_1)}{D(\varepsilon\varepsilon_1)} + \frac{(\kappa+1)^2 \varrho \varepsilon_1^2 (\sigma/\sigma_1 - \varepsilon/\varepsilon_1)}{[D(\varepsilon\varepsilon_1)]^2}; \quad (7)$$

$$\varepsilon_2/\varepsilon_1 = \frac{C(\varepsilon\varepsilon_1)}{D(\varepsilon\varepsilon_1)}. \quad (8)$$

Since now κ depends on $\varepsilon_2/\varepsilon_1$ only and therefore is real, these formulae are valid also for non-spherical particles of random orientation. For ellipsoids, the value of κ can be calculated by means of the formulae given earlier², using $k_2/k_1 = \varepsilon_2/\varepsilon_1$. This paper gives also numerical values of κ in graphical form for ellipsoids of rotation of different axis ratios and different values of $k_2/k_1 = \varepsilon_2/\varepsilon_1$.

Examination of formulae (2) and (3) will show that, whether $\varepsilon_2/\varepsilon_1 \leq \sigma_2/\sigma_1$, ε decreases and σ increases with increasing frequency (σ_p and ε_p of the two phases being taken to be independent of frequency) and the curves representing $(\sigma/\sigma_1) n = \infty/(\sigma/\sigma_1) n = 0$ and $(\varepsilon/\varepsilon_1) n = 0/(\varepsilon/\varepsilon_1) n = \infty$ plotted against $\varepsilon_2/\varepsilon_1$ (or σ_2/σ_1) for a fixed value of σ_2/σ_1 (or $\varepsilon_2/\varepsilon_1$) have a minimum at $\varepsilon_2/\varepsilon_1 = \sigma_2/\sigma_1$, where the two quantities are unity. (These statements follow also directly from the well known theorem, that the lines of electric force through a conducting heterogeneous system, are distributed in such a manner that the energy consumed is minimum.) When the difference between $\varepsilon_2/\varepsilon_1$ and σ_2/σ_1 is not very large, the error resulting from calculating the electric conductivity of the suspension by means of formula (1), is therefore relatively small.

In the earlier calculations (from ultrahigh frequency observations) of the interior conductivity of the red blood cell³ which were carried out in this manner, the greatest difference between $\varepsilon_2/\varepsilon_1$ and σ_2/σ_1 – which in this case represent the ratios of respectively dielectric constants and conductivities of cell interior to

those of suspending fluid – was only about 10% (for corpuscles in plasma), and the values given require corrections of less than 2% from the standpoint of the present theory.

H. FRICKE

Walter B. James Laboratory of Biophysics, Biological Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, May 8, 1952.

Zusammenfassung

Es wird darauf hingewiesen, dass die Formel

$$\frac{k - k_1}{k + \kappa k_1} = \varepsilon \frac{k_2 - k_1}{k_2 + \kappa k_1}$$

(k : dielektrische Konstante bzw. Leitfähigkeit) für die elektrischen Eigenschaften einer Suspension auch dann gilt, wenn die k komplex sind. Verschiedene Anwendungen dieser verallgemeinerten Formel werden besprochen, die für elektrische Messungen an zellularen Substraten biologischer Herkunft bei Ultrahochfrequenzen von Interesse sind. Diese umfassen Suspensionen orientierter Rotationsellipsoide. In Weiterführung früherer Arbeiten¹ werden Kurven angegeben, die κ für solche Systeme darstellen.

¹ H. FRICKE, Phys. Rev. 24, 575 (1924); Physics 1, 106 (1931).

Significance and Rearrangements of Quinol Models of Tyrosine Metabolites¹

Labile metabolites in the breakdown of amino acids are of fundamental interest². The transformation of tyrosine to homogentisic acid involving the apparent migration of an acetic acid side chain has led the biochemists to the assumption of a *labile quinol intermediate* as early as 1907³. The oxidation of p-alkylphenols with CARO's acid offers welcome analogies to the biochemical oxidation of tyrosine. Whereas under neutral conditions (in the presence of MgCO_3) p-cresol is converted to p-toluquinol⁴ (yield, 5–10%, possibly some o-hydroxylation to *homo-catechol*) the oxidation in acidic medium (1.8N H_2SO_4)⁵ leads directly to toluhydroquinone (about 15%, no catechol). These results prompted FRIEDMAN³, NEUBAUER⁶, and DAKIN⁷ to attempt unsuccessfully the preparation of quinols corresponding to tyrosine (DAKIN), p-hydroxyphenylpyruvic (NEUBAUER) and p-hydroxyphenylacetic acids (FRIEDMANN, DAKIN). Our own ex-

¹ On the Mechanism of Oxidation. VII. Preceding paper in this series: Ber. dtsh. chem. Ges. 85, 3. H. WIELAND, Festschrift (1952).

² Cf. Paper V in this series: Exper. 8, 36 (1952).

³ E. FRIEDMANN, Beitr. chem. Physiol. Pathol. 11, 304 (1908). – In 1901, E. MAYER [Dtsch. Arch. Klin. Med. 70, 443 (1901)] called attention to the similarity of the reaction tyrosine \rightarrow homogentisic acid to the rearrangement of p-tolylhydroxylamine to toluhydroquinone [E. BAMBERGER, Ber. dtsh. chem. Ges. 28, 245 (1895)], at a time when the isolation of the intermediate quinol had not been reported yet by BAMBERGER [Ber. dtsh. chem. Ges. 33, 3600 (1901)].

⁴ E. BAMBERGER, Ber. dtsh. chem. Ges. 36, 2028 (1903).

⁵ T. KUMAZI and R. WOLFFENSTEIN, Ber. dtsh. chem. Ges. 41, 297 (1908).

⁶ O. NEUBAUER, Dtsch. Arch. Klin. Med. 95, 211 (1909).

⁷ H. D. DAKIN, J. Biol. Chem. 8, 13 (1910). In the light of these precedents, it is surprising to find the following statement by DAKIN in his book *Oxidation and Reduction in the Animal Body* (Longmans, Green & Co., London, New York, Toronto, 1922), p. 93: "The Chemical analogy for the wandering of the $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{COOH}$ group is lacking". The recent findings by S. WEINHOUSE and R. H. MILLINGTON, J. Biol. Chem. 175, 995 (1948) and by B. SCHEPERTZ and S. GURIN, ibid. 180, 663 (1949), using tyrosine labeled with C_{14} in various positions, are clear evidence of the intramolecular migration of the side chain.

¹ J. C. MAXWELL, *Treatise on Electricity and Magnetism* (Clarendon Press, Oxford, 1937), p. 313.

² H. FRICKE, Phys. Rev. 24, 575 (1924); Physics 1, 106 (1931).

³ B. RAJEWSKY and H. SCHWAN, Naturwissenschaften 35, 315 (1948). – H. F. COOK, Nature 168, 247 (1951).

Formula	Compound	Melting point	IR-Absorption (in microns)			UV-Absorption (in EtOH) λ max (log ϵ)
			ester bands	Conj. CO	Conj. F	
	V (R=CH ₃) VI (R=CH ₂ -COOMe)	42° oil	5.67–5.74 5.74	5.98 5.96	6.11 6.11	236 m μ (4.16) (a) 228 m μ (3.92)
	II (R=CH ₃) III (R=CH ₂ -COOMe)	141–142° 102–104°	5.67 5.66–5.72	5.88 5.88	6.01 6.0	314 m μ (3.42) (b) 312 m μ (2.76)

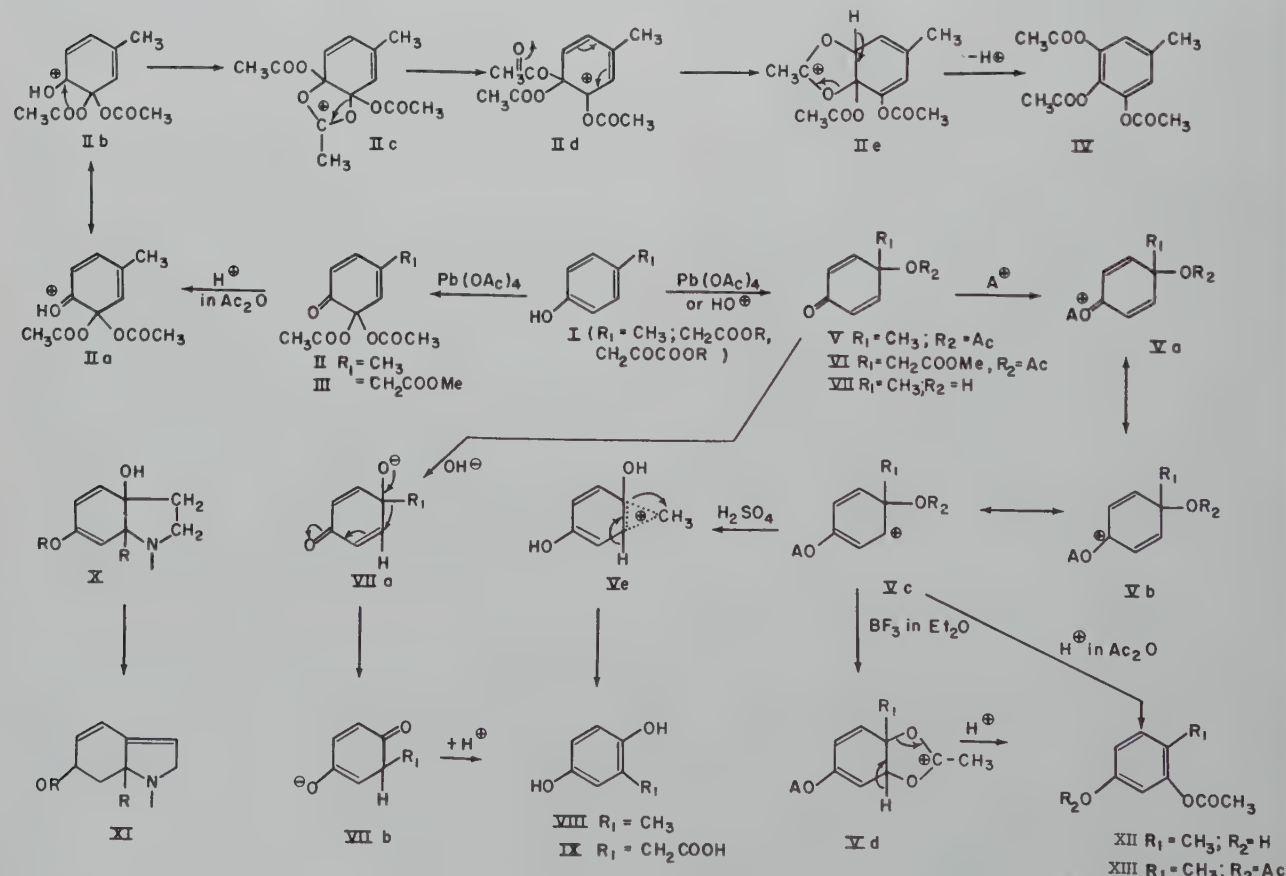
(a) F. WESSELY [F. WESSELY and F. SINWEL, *Mh. Chemie* 81, 1055 (1950)] observed only end absorption with p-toluquinol acetate. The free p-toluquinol absorbs at somewhat shorter wave length: λ max 227 m μ (log ϵ 4.13), cf. J. LIFSCHITZ *et al.*, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* 43, 404 (1924). (b) F. WESSELY [F. WESSELY and F. SINWEL, *Mh. Chemie* 81, 1055 (1950)] gives λ max 312 (log ϵ 3.4).

periments showed again the difficulty of obtaining such quinols by BAMBERGER rearrangement of the parent hydroxylamino derivatives or by peracid oxidation of the substituted phenols. The use of lead tetraacetate in glacial acetic acid, a method recently introduced by WESSELY¹, made it possible for the first time to prepare quinols with side chains such as R₁ = CH₂-COOCH₃, etc. Methyl p-hydroxyphenylacetate under these conditions gave about 5% of the o-quinone ortho-diacetate III,

m. p. 102–104°, and 2–5% of the p-quinol VI. The comparison of the chemical and spectral data (Table) shows the analogy between the quinol acetates from p-cresol¹ and the corresponding compounds from methyl p-hydroxyphenyl acetate. The action of acid on VI would be expected to result in hydrolysis of the two ester groups and in rearrangement to homogentisic acid (IX). However, when such acid-catalyzed rearrangements were studied with the simpler compounds V and II under

¹ F. WESSELY and F. SINWEL, *Mh. Chemie* 81, 1055 (1950).

¹ F. WESSELY and F. SINWEL, *Mh. Chemie* 81, 1055 (1950).



unhydrous conditions, novel migrations of acetoxyl groups were observed.

Four types of rearrangements can now be distinguished in the p-toluquinol acetate series:

(1) An external addition of acetate anion to the cation Vc (arising via $Va \leftrightarrow Vb$) by the action of acetic anhydride in a sulfuric acid-catalyzed THIELE reaction. The product is (starting with V) diacetyl cresorcinol (XIII, liquid, yield about 70%), hydrolyzed by base to cresorcinol, m. p. 106–107°, identified by analysis, mixed melting point, and IR-spectrum.

(2) An internal migration of the acetoxyl group by the action of boron trifluoride in ether involving a cyclic carbonium intermediate Vd reminiscent of similar intermediates in replacement reactions in which complex neighboring groups participate¹. The reaction product in this case is the new monoacetate cresorcinol (XII, yield 70%), m. p. 102–104°, hydrolyzed to cresorcinol.

(3) Hydrolysis of the p-quinol acetate in aqueous acidic solution followed by migration of the alkyl group (Ve) leading to toluhydroquinone (VIII) or to homogentisic acid (IX).

(4) Hydrolysis of the p-quinol acetate in aqueous alkaline medium followed by a benzilic acid type of rearrangement (VIIa \rightarrow VIIb) leading again to derivatives of hydroquinone (VIII, IX).

When the o-quinone ortho-acetate (II) was dissolved in acetic anhydride in the presence of catalytic amounts of sulfuric acid at room temperature an exothermic THIELE reaction of an unusual kind occurred yielding the triacetyl pyrogallol derivative IX, m. p. 101.5–102.5°. One of the possible routes in this, as we believe, combined intra- and intermolecular acetylation process is pictured in the hypothetical intermediates IIa \rightarrow IIe. IV, on acid hydrolysis, furnished 3,4,5-trihydroxytoluene (m. p. 126–7°) which, after methylation to the liquid 3,4,5-trimethoxytoluene, gave, on oxidation with potassium permanganate in acetone, trimethylgallic acid (m. p. 157°) identified by analysis, mixed melting points and infrared spectra.

To summarize: p-quinol acetates can rearrange to hydroquinone as well as resorcinol derivatives, o-quinoid compounds of type II to pyrogallol derivatives, whereby no change in the state of oxidation or reduction occurs. The formation of the o-quinoid compound II from I with lead tetraacetate may not necessarily go through the catechol state², a consideration which is significant for enzymatic reactions of a similar kind, such as the transformation of 3-hydroxyanthranilic acid to niacin. There 3,4-dihydroxyanthranilic acid, contrary to previous claims³ is not the intermediate⁴, but rather the o-quinoid compound (or an open analog⁵).

The quinols derived from p-cresol and hydroxyphenylacetate were not metabolized by the enzyme preparation from rat liver⁶ as Dr. LA DU⁷ found out. We comment on

the negative result of such a test in the same way as FROMHERZ and HERMANN¹ did forty years ago. Our results on the preparation and rearrangement of quinols with varying side chains derived from phenols I [$R_1 = CH_2COCH_3$; $CH_2-CH(NHAc)COOR$, etc.] will be reported elsewhere. That suitable negative centers of side chains, such as ethanamine, are capable of adding internally to the o-quinoid and p-quinoid systems II and V is known from previous work and considerations². The loss of water from an intermediate such as X would lead to a system XI present in β -erythroidine³ and, presumably in a slightly modified form, also in gliotoxin⁴. Model experiments in this direction are in progress.

B. WITKOP and Miss SIDNEY GOODWIN

National Institutes of Health, Washington 14, D. C.,
July 28, 1952.

Zusammenfassung

Der Dualismus der o- und p-Hydroxylierung, der beim Tyrosin *in vivo* beobachtet wird, lässt sich *in vitro* mit Bleitetraacetat nach WESSELY an geeigneten p-substituierten Phenolen, wie zum Beispiel p-Oxyphenylessigsäureester, demonstrieren. Die o- und p-Azetoxylie rung führt zu Azetaten o- und p-chinoider Verbindungen, die eine Fülle neuartiger säuren- und basenkatalysierter intra- und intermolekularer Umlagerungen zu Derivaten des Resorzins, Hydrochinons und Pyrogallols zeigen.

¹ K. FROMHERZ and L. HERMANN, Z. Physiol. Chem. 91, 213 (1914).

² D. RAPER, Biochem. J. 20, 735 (1926); 21, 89 (1927). – A. B. LERNER and T. B. FITZPATRICK, Physiological Review 30, 191 (1950). – Cf. R. ROBINSON, Chemistry and Industry 358 (1952).

³ V. PRELOG *et al.*, Helv. chim. Acta 34, 1601, 1969 (1951). – V. BOEKELHEIDE, M. F. GRUNDON, and J. WEINSTOCK, J. Amer. Chem. Soc. 74, 1866 (1952); A. C. S. Meeting, Atlantic City, Sept. 14–19, 1952, Abstracts, 12 M.

⁴ Unpublished results on the hydrogenation of gliotoxin by Dr. J. D. DUTCHER (as well as spectrophotometric observations) make the assumption of an aromatic ring in gliotoxin untenable. We are grateful to Dr. DUTCHER for the communication of his results as well as for stimulating discussions.

The Presence of 5-Hydroxytryptamine in the Venom of *Bufo marinus*

Serotonin, the vasoconstrictor substance in mammalian serum, has recently been identified by RAPPORT, GREEN, and PAGE¹ as 5-hydroxytryptamine. RAND and REID² have also shown that thrombocytin, the hemostatic agent in platelets, is probably 5-hydroxytryptamine. ERSAMER and OTTOLENGHI³ found that enteramine, which serves as a local hormone in the gut, is apparently 5-hydroxytryptamine. They have also found this substance in many invertebrate sources.

JENSEN and CHEN⁴ and WIELAND⁵, in 1934, established that various N-methyl derivatives of 5-hydroxytryptamine which have considerable pressor activity were present in large amount in toad venom. 5-Hydroxy-

¹ S. WINSTEIN, L. GOODMAN and R. BOSCHAN, J. Amer. Chem. Soc. 72, 4669 (1950); XII intern. Congr. of Pure and Applied Chemistry, Abstracts Org. Chem., 436, September 1951, New York. Cf. S. WINSTEIN and R. E. BUCKLES, J. Amer. Chem. Soc. 65, 613 (1943).

² Cf. J. N. SMITH, Biochem. Soc. Symposia, 5 15 (1950).

³ K. MAKINO, F. ITOH, and K. NISHI, Nature 167, 115 (1951).

⁴ L. M. HENDERSON, H. N. HILL, R. E. KOSKI, and I. M. WEINSTOCK, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78, 441 (1951).

⁵ A. H. BOKMAN and B. S. SCHWEIGERT, Arch. Biochem. Biophys. 33, 270 (1951). – Cf. A. BUTENANDT and H. G. SCHLOSSBERGER, Ber. dtsh. chem. Ges. 85, 565 (1952).

⁶ B. N. LA DU, Jr., and D. M. GREENBERG, J. Biol. Chem. 190, 245 (1951).

⁷ We are indebted to Dr. LA DU for these tests. Assaying of further quinols is in progress.

¹ M. M. RAPPORT, A. A. GREEN, and I. H. PAGE, J. Biol. Chem. 176, 1243 (1948).

² M. RAND and G. REID, Nature 168, 385 (1951).

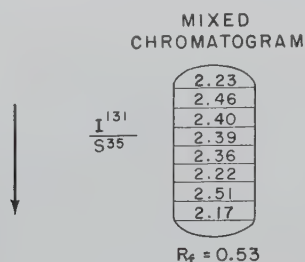
³ V. ERSAMER and A. OTTOLENGHI, Exper. 8, 31 (1952).

⁴ H. JENSEN and K. K. CHEN, J. Biol. Chem. 116, 87 (1936).

⁵ H. WIELAND, Ann. Chem. 513, 1 (1934).

tryptamine was not reported by these authors, but one would expect it to be a precursor of the N-methylated derivatives. Isotopic and chromatographic techniques have made it possible to demonstrate the presence of 5-hydroxytryptamine to the extent of about 0.1 per cent of the dry weight of *Bufo marinus* venom.

Approximately 2 g of dried venom obtained from 6 toads¹ were ground in a Potter glass homogenizer with a total of 400 ml of 0.02 N HCl in 75 per cent ethanol. The extract was evaporated *in vacuo* at 45° to about 80 ml and poured while still warm into 350 ml of 0.01 N HCl. After standing several hours to permit complete precipitation, the solids were removed by centrifugation and washed with 30–40 ml of 0.01 N HCl. The combined acid solution and washings were extracted twice with equal volumes of n-butanol and the butanol discarded.



Chromatogram of a mixture of S^{35} -labeled pipsyl derivative obtained from *Bufo marinus* venom and the I^{131} -labeled pipsyl derivative of an authentic sample of 5-hydroxytryptamine.

After cooling to 10–15°, the aqueous phase was adjusted with dilute NaOH to pH 10 and extracted three times with equal volumes of n-butanol. To the combined butanol extracts (about 1 l) was added 1 l of heptane. Water from the butanol layer separated out at this step. Three milliliters of 6 N HCl were added and the mixture shaken in a separatory funnel. The acid layer was withdrawn and the organic phase was re-extracted with 60 ml of water. The combined aqueous extracts were evaporated, under nitrogen, to approximately 10 ml, washed with an equal volume of n-butanol, and further evaporated to approximately 1 ml. The entire solution was deposited (as a line) across the tops of 2 sheets of WHATMAN No. 3 filter paper, and one dimensional chromatograms were developed using a mixture of butanol, propionic acid, and water in the proportions 5:2:3. The band of 5-hydroxytryptamine (R_f about 0.25) was located by means of its characteristic pink fluorescence in ultraviolet light. This fluorescent band was cut from each sheet and eluted with 0.1 N HCl. The eluate was adjusted to a pH of 8.95 and a volume of 8 ml and subjected to 24 transfer counter-current distribution² between n-butanol and 0.1 M borate buffer, pH 8.95. In this system, pure 5-hydroxytryptamine has a partition ratio of about 1. Tubes 8 to 16 which contained the bulk of material possessing spectral characteristics similar to 5-hydroxytryptamine were pooled and concentrated to about 2 ml. A half milliliter portion containing about 100 μ g of apparent 5-hydroxytryptamine was treated with S^{35} labeled p-iodophenylsulfonylchloride (pipsyl chloride) to yield the corresponding derivative. An authentic sample of 5-hydroxytryptamine³ was treated with I^{131} labeled pipsyl chlo-

ride forming the corresponding I^{131} labeled derivative. The S^{35} labeled material obtained from the toad venom and the I^{131} labeled derivative of pure 5-hydroxytryptamine exhibited identical R_f values on paper chromatograms and a mixture of the two yielded a single spot¹. Homogeneity was further established by demonstrating that I^{131}/S^{35} ratios in consecutive transverse segments of the spot on the mixed chromatogram were constant throughout (see Figure)².

The finding of 5-hydroxytryptamine in the toad increases the number of animal species in which this material has now been found and further suggests its general physiological importance. Its presence in the toad gland in relatively large amounts should make the toad a useful experimental animal in which to study its biosynthesis. The presence of the methylated derivatives suggests that methylation may be a pathway for metabolism of 5-hydroxytryptamine in other animals. Until now, the methylated derivatives of 5-hydroxytryptamine have been considered peculiar to the toad; they may prove to be of more widespread physiological importance.

S. UDENFRIEND, C. T. CLARK, and E. TITUS

Section on Chemical Pharmacology, National Heart Institute, National Institutes of Health, Public Health Service, Federal Security Agency, Bethesda, Maryland, July 5, 1952.

Zusammenfassung

5-Hydroxytryptamin (Serotonin, Enteramin, Thrombocytin), das in neuerer Zeit aus Blut oder Gewebe verschiedener Tiere isoliert wurde, konnte nun auch unter Verwendung von Isotopentechnik und Papierchromatographie als unmethylierter Vorläufer der schon bekannten Krötenbasen im Giftextrakt von *Bufo marinus* im Ausmasse von 0,1 % (bezogen auf trockenen Giftextrakt) nachgewiesen werden.

¹ The radioactive tryptamine derivatives were located on the chromatograms by radioautography.

² The radioactivity of the samples, which were essentially weightless, was measured with a 1.8 mg/cm² mica window G. M. counter. The amounts of I^{131} and S^{35} in each sample were determined by measurement of radioactivity with and without an aluminum absorber as described by A. S. KESTON, S. UDENFRIEND and M. LEVY, J. Amer. Chem. Soc. 72, 748 (1950) and S. UDENFRIEND, J. Biol. Chem. 187, 65 (1950).

Further Experiments on the Fixation *in vitro* of Radiocalcium to Sections of Bone

Historadiography of ground sections of total bone shows that minerals are unevenly distributed in the structures of second order of bone compacta and spongiosa, viz. the Ca content is lower in bone tissue of recent formation¹. No changes of the degree of the X-ray absorption in recently laid down and old structures occur when organic components of bone are removed by microincineration (at 700°C for 3 h)² or by treatment with glycol/K hydroxide (GABRIEL's method).

The investigation has been further extended and the new data can be summarized as follows:

(1) Ground sections of total bone (40 to 50 μ in thickness) decalcified from 18 to 24 h in highly diluted

¹ We wish to thank Dr. C. BERNARD LEWIS of the Institute of Jamaica for supplying the specimens of *Bufo marinus*.

² L. C. CRAIG, J. Biol. Chem. 155, 519 (1944).

³ 5-Hydroxytryptamine, as the creatinine sulfate complex, was generously supplied by the Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois, U.S.A.

¹ A. ENGSTRÖM and R. AMPRINO, Exper. 6, 276 (1950); R. AMPRINO and A. ENGSTRÖM, Acta Anat. 15, 1 (1952).

² R. AMPRINO, Z. Zellforsch. 37, 144 (1952).

nitric acid (from 1:20,000 to 1:30,000, pH from 3.8 to 4.5) lose from $\frac{1}{2}$ to $\frac{2}{3}$ of their mineral content. This partial decalcification does not substantially modify the differences in the relative degree of calcification of the various structures (quantitative micro-photographic-photometric study of the X-ray absorption).

(2) Autographs were made from ground sections of fresh, fixed in ethanol or macerated bone which were kept in slightly acid solutions of Ca^{45} chloride (0.1 g $\text{Ca}^{45}/_{100}$, pH 6.6 circa, Sp. activ. 1400 counts per minute/ml). The radioactivity after the treatment is much higher in recently formed and less calcified structures (e.g. recently laid down HAVERSIAN systems, inner and outer circumferential layers) than in relatively more calcified older structures¹. This differential uptake of radiocalcium is already apparent after treatment of the section with radiocalcium for a few minutes (from 10' to 15'). When the bone sections are kept in the radioactive solution for several hours (Fig. 1) or days (up to 18 days), the amount of labelled Ca fixed to the bone ground substance increases progressively according to a rate which is high at first and decreases with time. The relative distribution of radioactivity in the various structures does not show any detectable shifts after prolonged treatment with radiocalcium (cf. Fig. 1 C and 3 A).

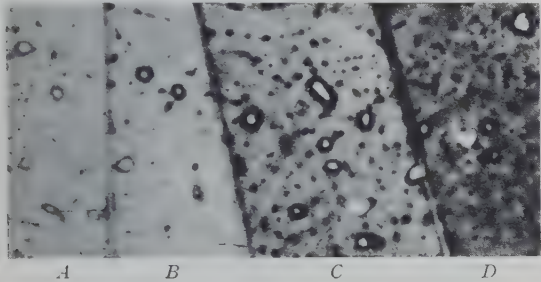


Fig. 1.—Calf, metatars. Successive sectors of the same ground section of total bone treated with Ca^{45} for 20', 70', 280', 420'. Autographs 12 ×.

The photometric analysis of the degree of calcification of newly formed HAVERSIAN systems (relatively to the calcification of the old primary bone) made on micro-radiographs of the same ground section before and after a long treatment with Ca^{45} (18 days) reveals no increment of minerals in the secondary bone². The failure of autoradiography to detect the increment of Ca in less calcified HAVERSIAN systems may depend on the low sensitivity of the method.

(3) Autographs show that a different uptake of Ca^{45} also occurs in recently formed and in old structures when ground sections of fresh bone undergo one of the following procedures before treatment with radiocalcium:

- (a) boiling in neutral distilled water for 10' to 20';
- (b) digestion from 1 to 3 h in a buffered 0.5% solution of hyaluronidase (pH 6.4) at 38°C;
- (c) treatment with a buffered 1% solution of phosphotungstic acid (pH 6);
- (d) partial decalcification in extremely diluted nitric acid to remove circa 30% of the mineral content.

¹ R. AMPRINO, Exper. 8, 20 (1952).

² The degree of calcification of newly laid down HAVERSIAN systems is from 20 to 25% lower than that of old bone tissue. The progressive increment of calcification of recently deposited ground substance takes place at a very slow rate *in vivo*. R. AMPRINO and A. ENGSTRÖM, Acta Anat. 15, 1 (1952).] The full calcification is attained in a period of at least a few months. [R. AMPRINO, Z. Zellforsch. 37, 144 (1952).]

The total amount of Ca^{45} absorbed by partially decalcified sections is somehow greater than the amount of Ca^{45} absorbed by non-decalcified control sections.

Fully decalcified bone sections do not fix radiocalcium at all.

(4) Removal of the organic components brings forth remarkable changes of the calcium-binding capacity of bone ground substance; however, the results vary if different methods are used to remove organic matter.

The total amount of Ca^{45} absorbed by the whole bone section is greatly reduced after microincineration¹; moreover, the differences of radioactivity in the various structures—as apparent in autographs of sections which were not ashed—become very small. In some instances no differences at all are detectable. The differences in the radiocalcium uptake fail almost entirely to show up in autographs from sections incinerated at 500°C for one hour and are not appreciable after incineration at 700°C for 3 h.

The uptake of radiocalcium is almost uniform in the various structures of bone also after treatment of the sections with boiling glycol/K hydroxide (GABRIEL); however, the total amount of Ca^{45} absorbed by the whole section increases considerably after treatment with this method (Fig. 2 B). In sections treated according to GABRIEL's procedure, the diffusion of radiocalcium seems to become an important controlling factor of the amount of Ca^{45} absorbed by ground substance; in fact, the Ca^{45} uptake is greater on the fringe of the sections and at the margins of the vascular channels than at some distance: a regular dropping of radioactivity from a maximum to a minimum is apparent in the regions mentioned (Fig. 2 B).

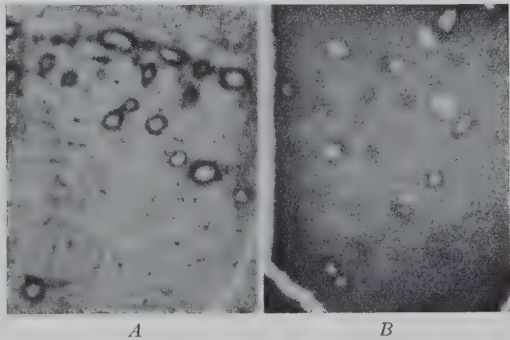


Fig. 2.—Calf, metatars. A, section of total bone treated with Ca^{45} then ashed (GABRIEL); B, control section ashed (GABRIEL) then treated with Ca^{45} . Autographs 15 ×.

The radioactivity of sections of total bone ashed by incineration and treatment with GABRIEL's method (or reciprocally, treatment with GABRIEL's method and incineration), thoroughly washed and treated with radiocalcium, is only slightly higher than the activity of sections of the same thickness which did not undergo ashing.

(5) The radiocalcium absorbed in different amounts in recently formed and old structures of bone sections fails to be removed by ashing (incineration or treatment with GABRIEL's method) and prolonged washing in distilled water (48 h; Fig. 3 B). The distribution of radioactivity does not undergo any changes when ground

¹ R. AMPRINO, Z. Zellforsch. 37, 240 (1952); cf. also W. F. NEUMAN, M. W. NEUMAN, E. R. MAIN, and B. J. MULRYAN, J. biol. Chem. 179, 335 (1949); W. P. NORRIS and W. KISIELESKI, Cold Spring Harbour Simp. Quant. Biol. 13, 164 (1948).

sections of total bone treated with radiocalcium are partially decalcified (or incinerated and decalcified) to remove from 1/10 to 1/8 circa of their mineral content. The total radioactivity of the section is thus greatly reduced, but in a rather uniform degree in the various structures (Fig. 4.)

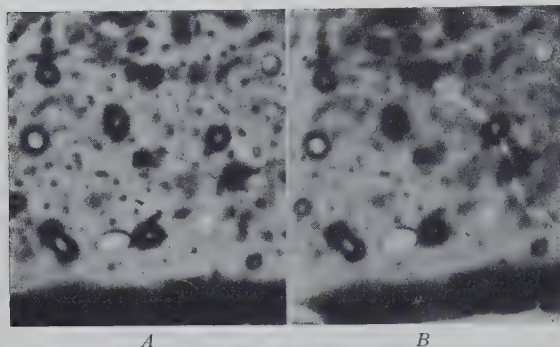


Fig. 3.—Calf, metatars. *A*, section of total bone treated with Ca^{45} for 18 days; *B*, the same after ashing (GABRIEL). Autographs 16 \times .

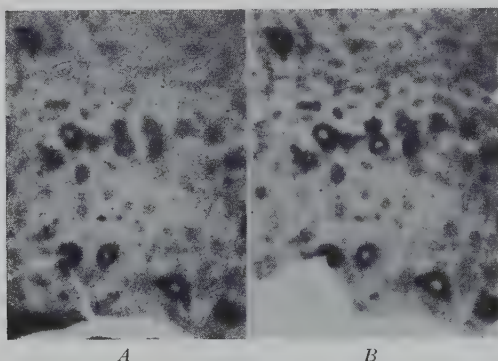


Fig. 4.—Calf, metatars. *A*, section of total bone treated with Ca^{45} then ashed; *B*, the same after partial decalcification. Exposure times of autographs 1:3. 13 \times .

(6) Autographs made from strips of periosteum peeled off from bone compacta (fixed in ethanol) and treated with radiocalcium show radioactivity only in limited areas which correspond to small spicules of bone adherent to the fibrous tissue.

R. AMPRINO

Institute of Anatomy, University of Turin, July 15, 1952.

Résumé

L'auteur s'est proposé de préciser les conditions qui règlent les différences quantitatives de fixation du radiocalcium dans la structure des os à différents stades de formation. De minces lamelles d'os usées et polies ont été soumises *in vitro* à des traitements divers (micro-incinération à 500° ou à 700° C, gabiélisation, décalcification partielle, traitement par la hyaluronidase, par l'acide phosphowolframique, etc.) et traitées en suite avec une faible solution de chlorure de Ca^{45} . L'étude des autoradiographies démontre que seule la destruction totale des composants organiques de la matrice osseuse entraîne des modifications appréciables de la distribution du radiocalcium.

Researches on the Chemical Composition of the Erythrocyte Membrane

At present the chemical composition of the erythrocyte membrane is still little known. Our researches are intended to contribute further data and clarity on the protein composition of the normal erythrocyte membrane, and at a future stage to see if any deviation from the normal exists in anemias due to haemolysis and erythrocyte fragmentation.

From erythrocyte shadows, precipitated from 50 to 100 cc of blood with the CO_2 method, stromatin (a fibrous protein) was extracted with EDSALL-WEBER's liquid¹. This extracted substance was precipitated several times to remove all the possible Hb present. All the aforesaid operations took place at low temperature. The precipitate was again dissolved in EDSALL-WEBER's liquid and chromatographed on WHATMAN's No. 1 filter paper using pyridine (80) + water (20) as solvent: ascensional method, time employed 12–18 h.

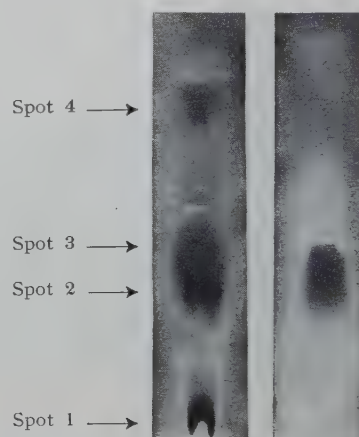


Fig. 1.

The Iodine evidence showed up 4 different spots (Fig. 1*A*) besides the frontal one which was partly due to the impurities of solvents, paper and partly due to traces of Hb.

Figure 1*B* represents the chromatogram of the top liquid after the first precipitation operation. It shows a spot corresponding to a substance which was not submitted to further researches.

In order to obtain and study a certain quantity of substances of which the 4 spots are made up, we chromatographed the substance by placing it on the paper along a horizontal line at a distance of about 3 cm from the edge immersed in the solvent. After drying the paper 3 strips were cut parallel to the course followed by the liquid (2 at the lateral edges and 1 central); the test was made with Iodine (Fig. 2).

Using these strips as guides we cut the strips corresponding to the 4 spots. The substances were eluted with EDSALL-WEBER's liquid according to CONSDEN, GORDAN, MARTIN's method². After dialysis through cellophan, the 4 substances were hydrolyzed for 8–10 h. with 20% HCl and after removing the HCl, the hydrolyzate was

¹ M. CIGADA, P. CITTERIO, A. ORLANDI, S. RANZI, and L. TOSI, Rend. Istit. Lombar. Sci. Lett. (Cl. Scienze) 82, 351 (1949).

² R. CONSDEN, A. H. GORDON, and A. J. P. MARTIN, Biochem. J. 41, 590 (1947).

bidimensionally chromatographed on WHATMAN's No. 1 paper: 1st liquid = n-Butanol + ac. acetic + H₂O; 2nd liquid = phenol + H₂O and NH₃ + KCN.

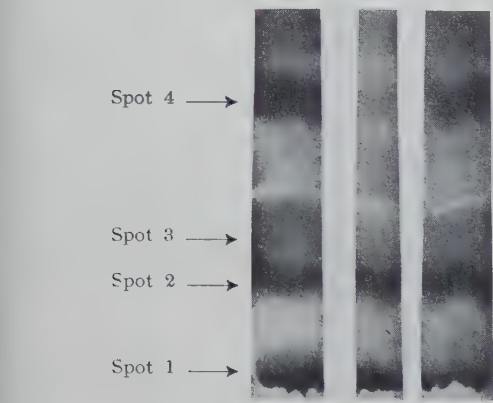


Fig. 2.

After spraying with ninhydrin the 4 hydrolized spots showed an almost identical chromatogram: 13 spots were stained with ninhydrin (amino acids) and 3 large spots were unstained (Fig. 3).



Fig. 3.

In the belief that the afore-mentioned 3 unstained spots may also be represented by lipids, strips corresponding to the 4 spot-substances were extracted in Kumagawa with ether and alcohol-ether. The substances extracted showed some organoleptic qualities of the lipids. The chemical findings are presented in the Table. These findings seem to demonstrate that the 4 spots are made up of substances which are probably fibrous lipo-proteins. Now arises the question whether the 4 substances isolated correspond either to 4 different proteins or to 4 fragments of the same protein or merely artefacts due to the technique used.

	HÜHL's Test	LIEBER-MANN'S Test	Nitro-Chromic Test ¹	P Test
Spot No. 1 . .	+	+	+	+
Spot No. 2 . .	+	+	—	—
Spot No. 3 . .	+	+	+	+
Spot No. 4 . .	+	+	—	—

The reproducible experiment can discount the possibility of an artefact. Further proof against an artefact is that three times during the paper chromatogram preparations the test tube containing the solution of the substance extracted with EDSALL-WEBER's liquid was kept at room temperature instead of in ice: in each case we saw, instead of 4 isolated spots, a single spot distributed along the whole course of the liquid as though the change of temperature had brought about a denaturation of the 4 substances. This fact, together with the chemical analysis of the lipid portions, which shows that the 4 lipid parts are not alike, speaks in favour of the hypothesis of the existence of 4 different proteins. The 4 protein fragment hypothesis, on the other hand, may be deduced by analogies made by BAILEY² concerning tropomyosin. To support the 4 protein hypothesis and to confirm our findings, other researches elsewhere have given proof that, besides the existence of Hb, the stromatin is not the only protein found in the red blood cells. STERN and co-workers³ isolated by electrophoresis from the stroma residue an "a-protein" which is probably stromatin and a "b-protein" which is as yet unidentified. CALVIN and co-workers⁴ separated another protein from stromatin called elinin, which could be divided by electrophoresis into two components: a main component (80%) and a faster component (20%). The aforementioned authors were unable to say if stromatin and elinin were two different proteins or if they were simply two fractions of the same protein. Although our research findings and those of the authors hereby cited are not completely identical, the fact remains that the ultimate results of each group lead to the conclusion that the red blood cells contain either several fibrous lipoproteins or a single protein which breaks up in two or more fragments.

L. PEROSA and G. RACCUGLIA

Institute of Clinical Medicine, University, Bari, Italy, March 18, 1952.

Riassunto

Gli autori, con un metodo del tutto originale e applicabile a relativamente piccole quantità di sangue (50-100 cm³) credono di essere riusciti ad isolare 4 lipoproteine dallo stroma eritrocitario.

¹ The nitro-chromic reaction for revealing the presence of primary and secondary alcohol groups.
² K. BAILEY, Brit. Med. Bull. 5, 338 (1948).
³ K. G. STERN, M. REINER, and R. H. SILBER, quoted by E. PONDER: *Hemolysis and related phenomena* (Grune & Straton, New York, 1948).
⁴ M. CALVIN, R. S. EVANS, V. BEHRENDT, and G. CALVIN: quoted by E. PONDER: *Hemolysis and related phenomena* (Grune & Straton, New York, 1948).

Electron Microscope Study of the Nuclear Membrane of *Amoeba Proteus* in Thin Section

The contribution of nuclear material to the cytoplasm during certain stages of cellular activity has given rise to an interest in the structure of the nuclear membrane across which this material must pass, and which might give a clue as to the nature of this exchange. Electron microscope investigations have already been made, employing a variety of techniques. CALLAN and TOMLIN¹, using nuclei of *Triturus* and *Xenopus* oocytes, spread out individual membranes on microscope specimen supports; BAUD² made replicas of nuclear surfaces in rat liver; and BAIRATI and LEHMANN³ studied fragmented nuclei of *Amoeba proteus*. In our investigation of the nuclear membrane of *Amoeba proteus* we used the method of thin sectioning for the electron microscope.

Amoebae were fixed in two different fluids: 2% osmic acid, and a mixture of equal parts of 2% osmic acid, 3% potassium dichromate, and 2% lanthanum nitrate. After dehydrating in alcohols, they were embedded in n-butyl methacrylate⁴ and sectioned at 0.1 to 0.2 microns with a modified Spencer microtome⁵. The sections were floated off onto a dioxane-water surface as they were cut and picked up on a glass microscope slide. The embedding material was removed with amyl acetate and the slide was then immersed in a dilute solution of collodion in amyl acetate. After drying, the resulting film was stripped off onto a water surface and mounted on an electron microscope specimen screen. The sections were observed with an R.C.A. type E.M.U. electron microscope.

The double nature of the nuclear membrane, as first described by CALLAN and TOMLIN in amphibian oocytes and later by BAIRATI and LEHMANN in *Amoeba proteus*, can easily be seen in cross section as shown in Figure 1. There is an outer continuous layer approximately 1000 Å thick and an inner porous layer of about 2000 Å. Figure 2 shows a section of the membrane cut parallel to its surface where the characteristic pattern of pores may be seen. In Figure 3 an oblique section at the edge of the nucleus again shows the inner position of the porous layer. The average spacing between pore centers is approximately 1200 Å as measured in both cross sections and sections cut parallel to the surface of the membrane. The average pore diameter is around 800 Å. There was no noticeable difference between specimens fixed in osmic acid and those fixed in the osmic, dichromate, lanthanum mixture.

In contrast to the arrangement found in the amphibian oocyte nuclear membrane, the continuous layer of the amoeba nucleus lies on the outside, while the porous layer lies inside. The average pore size and spacing found here are somewhat less than that found by BAIRATI and LEHMANN who reported an average diameter of 1200 Å and 1500 Å between centers. However, if one considers the difference in techniques employed and the many places where preparation artifacts may occur, the size measurements are in surprisingly good agreement.

PATRICIA HARRIS and T. W. JAMES⁶

¹ H. CALLAN and S. TOMLIN, Proc. Roy. Soc. [B] 137, 367 (1950).

² C. BAUD, Bull. Histol. Appl. 3, 41 (1950).

³ A. BAIRATI and F. E. LEHMANN, Exper. 2, 60 (1952).

⁴ S. B. NEWMAN, E. BORYSKO, and M. SWERDLOW, Science 110, 66 (1949).

⁵ R. F. BAKER and D. C. PEASE, J. Appl. Phys. 19, 1189 (1948).

⁶ Predoctoral U. S. Public Health Fellow-Research.

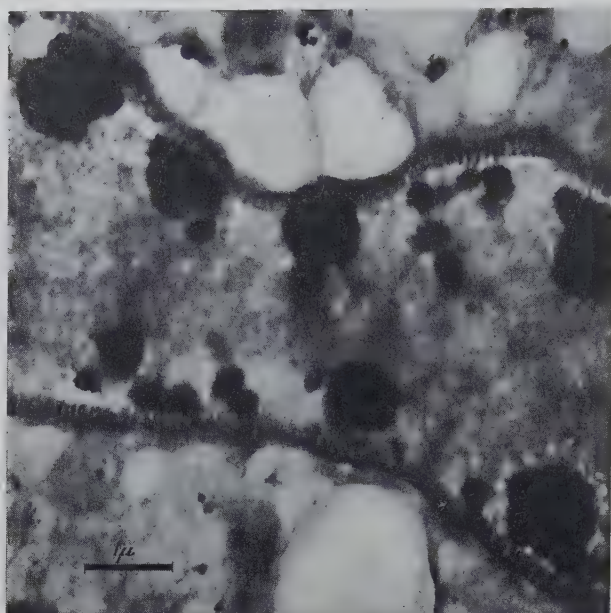


Fig. 1.—Cross section of part of *Amoeba nucleus*. Fixed in osmic, dichromate, lanthanum mixture.



Fig. 2.—Section of nuclear membrane cut parallel to the surface, showing arrangement of pores. Fixed in 2% osmic acid.

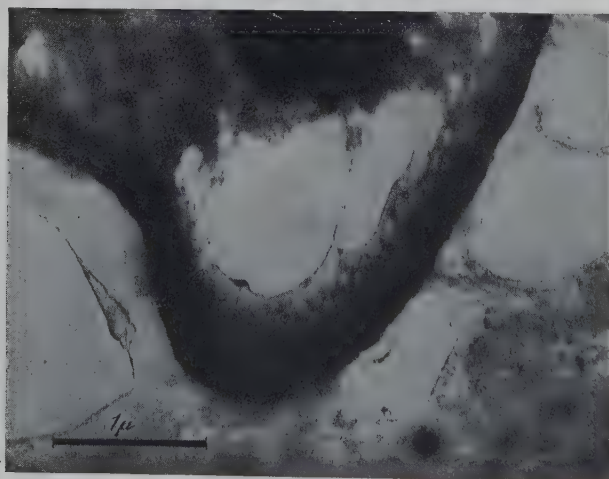


Fig. 3.—Oblique section through nuclear membrane. Fixed in 2% osmic acid.

We wish to thank Dr. DANIEL MAZIA for his encouragement and direction.

Department of Zoology, University of California, Berkeley, May 19, 1952.

Zusammenfassung

Man findet in den elektronenmikroskopischen Bildern dünner Schnitte der Kernmembran von *Amoeba proteus* eine charakteristische Porenstruktur, wie sie BAIKATI und LEHMANN (1952) mit einer andern Technik gezeigt haben. Querschnitte und semitangential Schnitte durch die Kernmembran zeigen eine äussere kontinuierliche und darunter eine innere Porenschicht. Bestandteile des Kerninhaltes können unterschieden werden.

DISPUTANDA

Contamination of Electron Microscope Preparations

Some Remarks to the Brief Report on *Metabolic Chromosomes Isolated from Blood Cell Nuclei of Various Animals* by G. YASUZUMI *et al.*¹

In a recent paper by YASUZUMI *et al.*¹ some electron micrographs are included which supposedly represent chromosomes of various vertebrate animals. The fourth one of these micrographs looks very familiar to me since the "chromosome" closely resembles a bacterium I have been cultivating in pure culture for some years: a stalked bacterium, *Caulobacter* spec. Up to the present this genus has received little attention, though one species had been isolated as early as 1905 by JONES². The genus was described by HENRICI and JOHNSON³. Electron micrographs and a short description of this bacterium have been given by HOUWINK and VAN IJERSON⁴ and, with more particulars, by HOUWINK⁵. Figure 1 shows that the stalk may bear a number of cross-bars the nature of which I have not been able to elucidate. The fact that the latter are similar to the two cross-bars shown on YASUZUMI's micrograph adds to the degree of certainty with which the organism may be identified.

The genus is probably common in fresh-water. My first strain, however, was isolated from distilled water. As every electron microscopist uses distilled water in the preparation of his specimens, I am not surprised at *Caulobacter* turning up in an E. M. study on a subject not in the least related to bacteriology.

Only rarely, however, does *Caulobacter* occur in E. M. preparations. Another contamination of organic origin is found much more frequently. On electron micrographs of shadowed specimens it looks a double-stranded spiral (Fig. 3). Usually one of the ends is rounded and here one or a few "flagella" seem to be inserted. With many specimens, the square cut appearance of the other end suggests that they have been broken in two parts. The

diameter is 5000–7000 Å. A description and some micrographs of these as yet unidentified "organisms" have

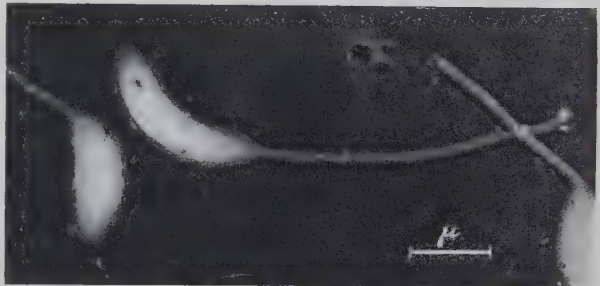
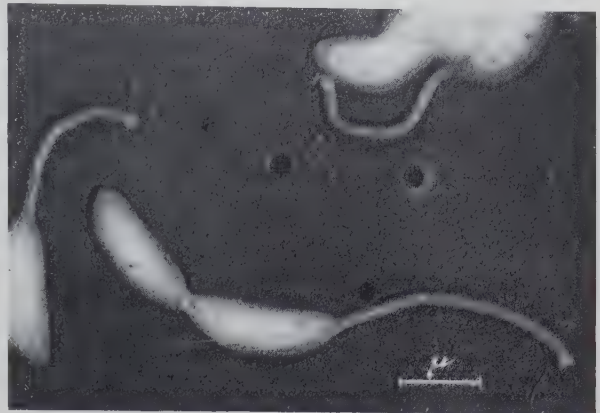


Fig. 1 and 2.—*Caulobacter* spec.

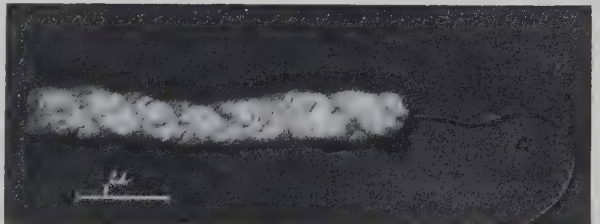


Fig. 3.—Unidentified "micro-organism".

been published by WIGAND and PETERS¹. For further particulars I refer to their paper. Electron microscopists would be well advised to make themselves acquainted with the appearance of this common contamination.

A. L. HOUWINK

T. P. D., E. M. Division, and Laboratory for Microbiology, Delft, Holland.

Zusammenfassung

In dieser Zeitschrift wurden vor kurzem von YASUZUMI *et al.* elektronenmikroskopische Aufnahmen von Chromosomen veröffentlicht. Auf den Bildern sind gewisse merkwürdige Teilchen zu sehen. In der vorliegenden Notiz macht der Verfasser darauf aufmerksam, dass Mikroorganismen gelegentlich Präparate für elektronenmikroskopische Untersuchungen verunreinigen können.

¹ R. WIGAND und D. PETERS, *Z. wiss. Mikrosk.* 60, 405 (1952).

¹ G. YASUZUMI, T. YAMANAKA, S. MORITA, Y. YAMAMOTO, and J. YOKOYAMA, *Experientia* 8, 218 (1952).

² M. JONES, *Centr. Bakt. Parasitenk., Abt. II*, 14, 459 (1905).

³ A. T. HENRICI and D. E. JOHNSON, *J. Bact.* 30, 61 (1935).

⁴ A. L. HOUWINK and W. VAN IJERSON, *Biochim. biophys. Acta* 5, 10 (1950).

⁵ A. L. HOUWINK, *Nature* 168, 654 (1951).

The Cytochromoxydase Activity in the Uterus of Experimental Animals

The enzymatic activities of the uterus and genitals have been comparatively little studied: particularly poor are the records covering the cytochromoxydase activity, about which only indirect references are available on the basis of the cytochrome *C* concentration or the respiratory activity of this organ.

JUNOWICZ-KOCHOLATY and HOGNESS¹, by using the spectroscopic method for their investigations, succeeded in determining the amount of cytochrome *C* occurring in the various organs and tissues: they have found that only minimal traces of cytochrome *C* occur in the human uterus.

FERRONI² in 1941 stated that the respiratory activity of the female rabbit uterus is higher during pregnancy and decreases during puerperium to minimal values during the period of rest in the organ.

According to this author, such variations should be regarded as due exclusively to hormonal factors.

DAVID³ ascertained that the respiratory activity of the experimental animal uterus is higher during oestrutuation.

In the present experiments, the cytochromoxydase activity in the rat uterus was determined during the various phases runs of their lives.

The albino rat was used.

Animals of different ages were chosen and kept under identical experimental conditions. The uterus was removed under ether anaesthesia. After immediate weighing on a GALILEO-SARTORIUS balance, 100 mg were weighed separately. In the animals where the uterus weight was lower than 100 mg, the entire organ was used and the result obtained was corrected to 100.

The 100 mg uterus was later mortar homogenized and retaken with 5 cm³ phosphate buffer 0.067*M* (pH 7.4).

The cytochromoxydase activity was determined according to SROTZ⁴: 0.3 ml of the homogenate were used as an enzymatic suspension.

The system in the first vessel was composed of: 1 ml of phosphate buffer 0.067*M* (pH 7.4), 1 ml of a solution of cytochrome *C* in phosphate buffer (concentration of cytochrome *C* 2.4×10^{-4} *M* 0.3 ml uterus homogenate (prepared by 100 mg tissue in 5 cm³ phosphate buffer), 0.20 ml KOH 30% in central well, and 0.30 ml of a solution of sodium ascorbate (prepared by dissolving 20 mg ascorbic acid in 1 cm³ Na OH *n*/10) in the side arm.

The second vessel contained all reagents with exception of the solution of sodium ascorbate.

The third vessel was identical with the first one, but the uterus suspension was boiled 3 min.

The values given by the vessels 2 and 3 were subtracted from the result obtained in the first vessel.

Cytochrome *C* was prepared from horse-heart according to KEILIN and HARTREE⁵.

The experiments performed show that the cytochromoxydase activity of the uterus of the animals employed is greater the smaller the weight of the uterus. This applies to young or even impuberal animals, and

Experiment	Uterus weight in milligrammes	Result (cytochrom- oxydase activity in mm ³ O ₂)
1	65	86.48
2	72	80.26
3	76	81.44
4	84	76.78
5	85	60.79
6	93	59.74
7	103	58.28
8	100	32.22
9	105	33.21
10	126	52.27
11	136	40.53
12	140	33.28
13	157	33.83
14	155	28.52
15	190	34.54
16	203	40.20
17	207	17.29
18	221	12.89
19	223	21.00
20	270	8.39
21	325	7.25
22	415	5.28
23	420	3.18
24	470	6.16
25	472	0.76

is probably due to the intense metabolic processes which develop in organs during the various stages of growth.

In middle-aged animals, this activity decreases, the minimal values in the larger uteri corresponding to the adult animals.

R. ROSSI

*Department of General Pathology and Bacteriology,
University of Genoa, Italy, June 12, 1952.*

Résumé

L'auteur a déterminé la valeur de l'activité de la cytochromoxydase dans la matrice des rats dans les diverses périodes de leur vie. Il a trouvé que cette activité est plus élevée dans les jeunes animaux, et elle diminue avec la croissance du poids de la matrice et de l'âge des animaux, jusqu'à arriver à des valeurs très petites dans les matrices des animaux adultes.

Inhibition of Bacteriophage Development in Bacteria Illuminated with Visible Light

Photoreactivation¹ of the induction to lyse and liberate phages of lysogenic bacteria produced by ultraviolet light (U.V.) and by X-rays has been described by JACOB², LATARJET³, and CANTELMO⁴. It appears from the last two communications that photoreactivation of induction may differ from photoreactivation of other effects, since it counteracts the effect of X-ray treatment (LATARJET) and is produced by exposure to white light before induction by U.V. (CANTELMO). We wish to call attention to the fact that these results may not be due to

¹ R. JUNOWICZ-KOCHOLATY and T. R. HOGNESS, *J. Biol. Chem.* 129, 569 (1939).

² A. FERRONI, *Lo Sperimentale* 365, 375 (1941).

³ L. DAVID, *J. Pharmacol. Baltimore* 43, 1 (1931).

⁴ E. SROTZ, A. E. SIDWEL, JR., and T. R. HOGNESS, *J. Biol. Chem.* 124, 733 (1938).

⁵ D. KEILIN and E. F. HARTREE, *Proc. roy. Soc. London [B]* 122, 298 (1937).

¹ Photoreactivation has become a general term meaning the reversion by visible light of an effect due to ultraviolet light.

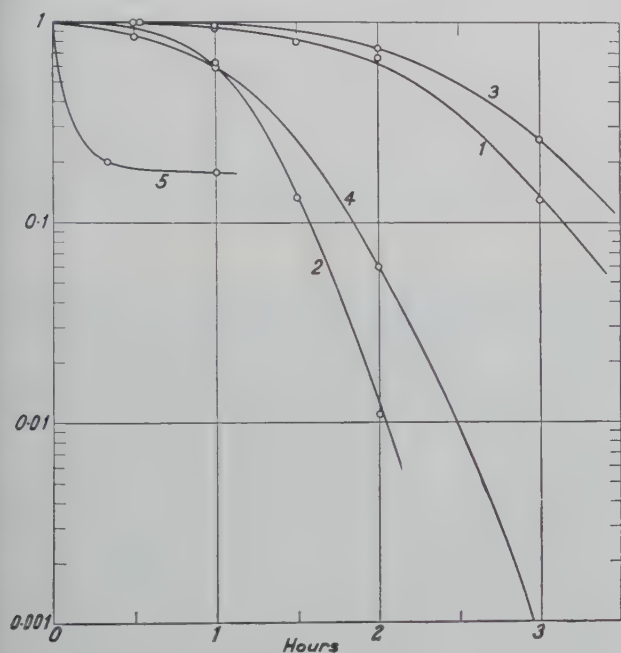
² F. JACOB, *C. r. Acad. Sci.* 231, 1885 (1950).

³ R. LATARJET, *C. r. Acad. Sci.* 232, 1713 (1951).

⁴ P. CANTELMO, *C. r. Soc. Biol.* 145, 1882 (1951).

photoreactivation, because white light inhibits the ability of bacteria to support the growth of bacteriophage, independently of a previous treatment with U.V. or X-rays.

(1) *Inhibition of growth of phage T2 in Escherichia coli B irradiated with white light.*—The cells of a bacterial culture grown in tryptone broth to the concentration of 10^8 cells/ml were washed by centrifugation and resuspended in a saline solution. The final concentration was 10^9 cells/ml. Two milliliters of this suspension were exposed at 37°C to the light of a G. E. H5, medium pressure, mercury discharge lamp, under condition previously described (DULBECCO¹). At various times of illumination samples were withdrawn, diluted 1:10 into the same saline solution, assayed for colony forming bacteria on nutrient agar and then mixed with phage T2 (multiplicity of infection of 0.5); 8 min were allowed for phage adsorption at 37°C , then strong anti-T2 serum was added to inactivate free phage; after 5 min the mixture was diluted and assayed for the number of bacteria yielding phage.



Effect of White Light on the Development of Bacteriophage.

The ordinates represent the logarithm of the "surviving" fractions and the abscissae the dose of white light in hours of illumination. Curve 1, *Escherichia coli* B as colony former, curve 2 as T2 grower. Curve 3, *Escherichia coli* K12 as colony former, curve 4 as carried phage grower when illuminated before induction, curve 5 when illuminated after induction.

We determined therefore the change in the number of colony-forming bacteria, and of the number of bacteria supporting the growth of the phage, as functions of the time of exposure to the white light. The results are given in the Figure (curves 1 and 2).

The graph shows that both classes of bacteria decrease with the time of illumination, giving rise to curves of very high "number of hits". The light suppresses more effectively the ability to support the growth of the phage than the ability to form colonies: only 1% of the cells allow phage multiplication when 70% are still able to form colonies.

¹ R. DULBECCO, J. Bact. 59, 329 (1950).

Bacteria kept in darkness for a time longer than the time of illumination maintained both properties unaltered.

(2) *Inhibition of the inducibility of Escherichia coli K12 irradiated with white light.*—A relatively small dose of U.V. induces lysogenic K12 to lyse and to liberate its carried phage (after a latent period of 60 min at 37°C) (WEIGLE and DELBRÜCK¹). In the present experiments the bacteria were grown to a density of 10^8 cells per milliliter in tryptone broth, centrifuged, washed twice and resuspended in saline. A part of the suspension was illuminated for different lengths of time with white light using the apparatus described in the preceding section; aliquots were then plated for surviving, colony-forming bacteria and other aliquots were induced with a standard U.V. dose of 80 s at 80 cm from a 15 W G.E. "germicidal" lamp, and plated with sensitive bacteria to determine the proportion of induced cells. This dose of U.V. induced at least 99% of the cells not treated with white light.

The results are shown in the Figure (curves 3 and 4). One sees that only 1% of the bacteria can be induced when 50% of them can still form colonies. Bacteria kept in darkness for the same length of time showed no detectable change in inducibility.

(3) *Photoreactivation by white light of induction of Escherichia coli K12 by U.V.*—Bacteria were prepared and induced as in the previous experiment, and treated afterwards by white light. As shown in the Figure (curve 5), after 20 min of illumination the proportion of induced bacteria was reduced from 99% to 20%, without appreciable change at longer exposures. The effect of illumination after induction is thus very different from that of illumination before induction.

We conclude that white light inhibits the ability of bacteria to support the growth of infecting lytic bacteriophage and of induced carried phage, as shown by the identical results obtained in experiments 1 and 2. In bacteria infected with lytic phages this effect reduces the number of cells liberating phage and therefore decreases the observable amount of photoreactivation; in bacteria carrying prophage the same effect reduces the number of cells liberating phage after U.V. irradiation and therefore increases the observable amount of photoreactivation and may even simulate its existence. Photoreactivation of the induction of K12 by U.V. has however been shown to exist by experiment 3. To prove photoreactivation in the case of induction produced by X-rays the same series of experiments should be carried out.

R. DULBECCO and J. J. WEIGLE

Kerckhoff Laboratories of Biology, California Institute of Technology Pasadena, California, August 1, 1952.

Résumé

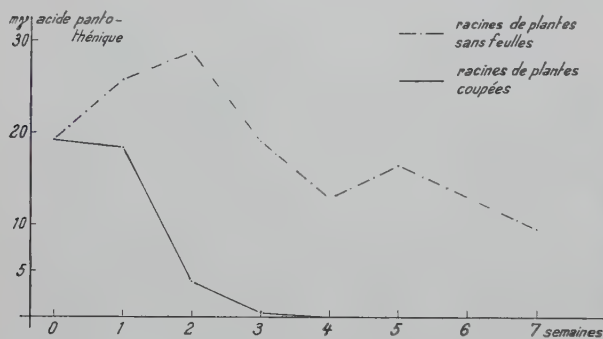
Les auteurs montrent que des bactéries illuminées avec de la lumière visible perdent leur capacité de multiplier les bactériophages; cela aussi bien lorsque la bactérie (*Escherichia Coli* B) a été infectée de l'extérieur par un phage virulent (T2) que lorsque la bactérie lysogène (*Escherichia Coli* K12) a été induite à multiplier le phage (λ) qu'elle portait. Dans ce dernier cas cet effet de la lumière peut simuler une photoréactivation.

¹ J. J. WEIGLE and M. DELBRÜCK, J. Bact. 62, 301 (1951).

Recherches sur la biogenèse de l'acide panto-thénique chez *Pisum sativum*

On ne sait que peu de chose relativement aux organes végétaux dans lesquels s'effectue la biosynthèse de l'acide pantothenique (A.P.). Pour résoudre le problème, nous avons opéré de la manière suivante. Des méristèmes radiculaires de *Pisum* (sorte Maikönigin) sont cultivés aseptiquement en milieu synthétique à base de saccharose, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 , KCl , KH_2PO_4 , MgSO_4 , tartrate de fer et vitamine B_1 . Des repiquages sont effectués tous les 15 jours. Le taux initial moyen d'un méristème inoculé est de 39 mg par mg/s . Après le premier repiquage déjà le taux diminue et, dans la suite, on ne peut plus déceler d'A.P. à l'aide du test *Lactobacillus arabinosus*. La chute du taux s'effectue rapidement; l'A.P. se retrouve encore dans la pointe de la racine, puis finit souvent par disparaître complètement. Une diffusion de l'A.P. n'a pas pu être démontrée.

En ajoutant de l'A.P. au milieu (de 50 à 10 000 mg pour 20 cm^3) nous relevons qu'avec des doses faibles, la vitamine disparaît complètement alors qu'avec des doses plus élevées, 10 % environ de ces dernières ne sont plus retrouvées.



Evolution du taux de l'acide pantothénique dans les racines de *Pisum* *in vivo*

On peut donc conclure que la racine isolée, dans les conditions de culture utilisées, ne peut synthétiser de l'A.P. décelable par notre test.

Nous avons suivi l'évolution du taux de l'A.P. dans les racines de plantes intactes. La pointe des racines de jeunes plantes est riche en A.P.; au fur et à mesure du développement, le taux diminue; au moment de la maturation des graines l'A.P. a disparu des racines. Relevons cependant que le taux reste mesurable beaucoup plus longtemps que dans les racines *in vitro*.

Il en va de même pour les feuilles, dont le taux initial moyen est de 10-12 mg/mg et, après 4 semaines, tombe à 5-7 mg/mg . A la fin de la période de végétation, la vitamine disparaît.

Il n'a pas pu être démontré que l'A.P. passe sous forme combinée et devient par là inaccessible au test microbiologique.

Finalement, l'expérience suivante, essentielle, a été effectuée. Les plantes d'un premier lot, âgées de 2 semaines, sont privées de leurs feuilles et de leurs bourgeons, mais conservent leurs tiges vertes; celles d'un second lot sont coupées à 1 cm au-dessus du sol. Chez les plantes du premier groupe, après 7 semaines, le taux en A.P. des racines est encore appréciable; après 3 semaines, les plantes du second groupe ont des racines privées d'A.P. Nos expériences démontrent clairement que chez *Pisum* l'A.P. est synthétisé dans la partie aérienne de la plante,

dans les feuilles avant tout d'où il est conduit jusqu'à la racine; cette dernière, cultivée *in vitro*, ne peut fabriquer cette vitamine réputée essentielle. Relevons encore que, dans ce cas, la racine isolée, en culture pure, peut se développer d'une manière appréciable sans A.P.

Ces recherches ont été effectuées avec l'appui de la «Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz», à laquelle nous adressons tous nos remerciements.

R. LOUIS

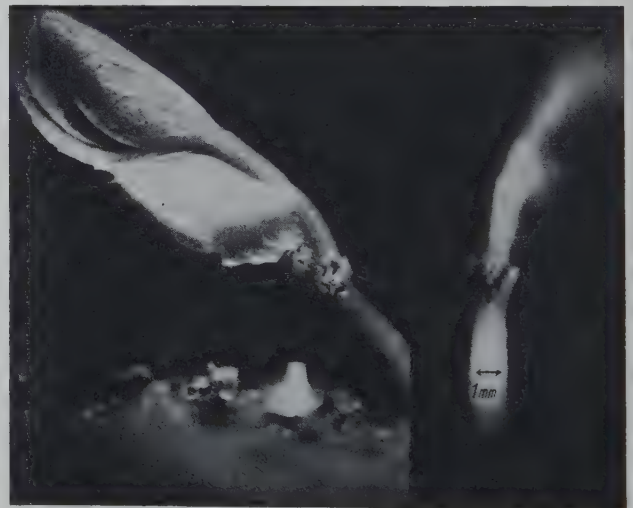
Institut et Jardin botaniques de l'Université de Berne, le 8 juillet 1952.

Summary

Experiments on the biosynthesis of pantothenic acid (P.A.) of *Pisum sativum*. We have demonstrated that roots of *Pisum*, cultivated on a synthetic medium, cannot synthesize P.A. The latter is synthesized in the leaves of the intact plant and passes from there into the roots.

Essais de greffe de points végétatifs de *Pisum* sur des méristèmes radiculaires cultivés *in vitro*

Il est aisé d'effectuer aseptiquement des cultures d'organes *in vitro*, sur milieu synthétique. On peut se demander s'il n'est pas possible de réunir au moyen d'une greffe des parties ainsi séparées.



A gauche: Greffe de point végétatif et de jeunes feuilles sur la racine cultivée *in vitro*. A droite: Soudure de l'épibioté et de l'hypobioté.

Des cultures de méristèmes radiculaires de *Pisum* (sorte Maikönigin) sont effectuées sur milieu de BONNER, avec aneurine; après quelques jours, les racines sont extraites de leur milieu et, aseptiquement, des points végétatifs de tige du même âge, entourés de quelques feuilles vertes, sont greffés dans une fente préparée dans la racine. La greffe est maintenue au moyen d'une fine ligature et le tout, placé dans du sable stérile, est régulièrement arrosé avec du liquide de KNOP au $\frac{1}{3}$. La jeune racine (hypobioté) est enfoncée complètement dans le substrat et toutes les précautions sont prises pour que la stérilité soit maintenue. Une soudure plus ou moins nette se fait entre l'épibioté et l'hypobioté. Durant 15 à 20 jours l'épibioté reste vert et turgescence, mais ne se dé-

Age de la racine, au moment de la greffe	Longueur		Augmen- tation	Poids frais		Augmen- tation
	initiale mm	finale mm		initial mg	final mg	
5 jours	53	58	5	29	32	3
5 jours	50	57	7	25	35	10
6 jours	75	86	11	40	47	7
6 jours	70	85	15	38	50	18
7 jours	55	62	7	28	34	6
7 jours	62	82	20	32	50	18

veloppe pas alors que la racine s'allonge nettement; l'accroissement de cette dernière peut être dû aussi bien à des divisions cellulaires qu'à une elongation de cellules formées. Après trois semaines, la région où s'est effectuée la greffe brunit; l'épibioté meurt tandis que la racine, régulièrement arrosée, reste plus longtemps en vie. Le tableau ci-dessus indique les résultats obtenus.

Il faut admettre certaines incompatibilités entre les deux partenaires. Le passé physiologique d'une racine cultivée isolément n'est certainement pas comparable avec celui d'une racine normale, restée en contact avec la partie aérienne, feuillée; les corrélations normales ont de la peine à s'établir entre les partenaires de la greffe.

Ces premiers essais attestent qu'une telle greffe doit être possible malgré les dissemblances de structure anatomique des deux partenaires.

W. H. SCHOPFER et R. LOUIS

Insti ut et Jardin botaniques de l'Université de Berne, le 8 juillet 1952.

Summary

Experimental grafting of *in vitro* cultivated root-meristems upon embryonal apical buds of *Pisum* is described.

Chromosomes de Muridae (II)

Grâce à MAKINO et NISHIMURA¹ nous disposons maintenant d'une technique simple et rapide convenant admirablement à l'étude des chromosomes chez les mammifères: Il s'agit de préparations obtenues par écrasement de fragments testiculaires prétraités 5 à 10 min par l'eau distillée et fixés à l'acide acétique à 50 %. L'im-bibition aqueuse due au prétraitement déploie des effets singulièrement favorables et des images cytologiques parfaites sont obtenues à coup sûr. Il est préférable de ne pas colorer selon les indications des auteurs japonais, mais, après avoir décollé les lamelles à l'alcool 70°, d'hydro-

lyser les préparations 12' par HCl/N à 56°, puis de les traiter par la fuchsine sulfureuse de FEULGEN. L'emploi combiné de cette technique nouvelle et de la méthode classique de MINOUCHI², celle-ci convenant seule pour l'étude du comportement hétérochromosomique à la mé-taphase et à l'anaphase I, permet de préciser bien des points demeurés douteux. C'est ainsi que j'ai pu réétu-dier tous les Muridae qui, dans ces dernières années, ont fait l'objet d'études cytologiques et que, d'autre part, j'ai analysé plusieurs espèces où les conditions chromo-somiques n'étaient pas connues. Ces recherches doivent être considérées comme un prélude à la cytologie com-parée des Muridae, problème d'évolution et de systé-matique, en même temps que comme une contribution à la solution de questions purement cytologiques.

A ce dernier point de vue, je puis maintenant prendre position d'une manière tout à fait nette contre la conception de KOLLER et DARLINGTON³: Bien que plusieurs rongeurs montrent d'incontestables images de chiasmas entre l'X et l'Y, il n'y a jamais coexistence, dans une même espèce, de pré- et de post-réduction. Le couple X-Y se disjoint post-réductionnellement chez les Apo-demus, pré-réductionnellement chez tous les autres Muri-dae. Cette conclusion, en accord avec les observations de MAKINO³ (1941), exige une interprétation de la post-réduction, interprétation que j'ai esquissée dès 1949 en me fondant sur la notion d'anticipation centromérique.

Voici tout d'abord la liste des espèces qui n'avaient pas été l'objet de recherches (voir tableau ci-dessous).

Les chromosomes sexuels des Gerbillinae sont tout à fait semblables à ceux des Cricetinae paléarctiques; *Cricetu-lus migratorius* d'Iran a la même formule que *C. griseus* de Mongolie. *Microtus incertus*, des Hautes-Alpes, est une espèce discutée que certains systématiciens considèrent comme une sous-espèce ou une forme de *M. arvalis* Pallas. L'étroite parenté de ces deux campagnols se manifeste à l'échelle cytologique, aucune différence dans la morphologie chromosomique n'existant. Quant à *Clethrionomys gapperi* des Etats-Unis, il correspond

¹ O. MINOUCHI, Jap. J. Zool. 1, 219 (1928).
² P. KOLLER et C. DARLINGTON, J. G. 29, 159 (1934).
³ S. MAKINO, J. F. Sci. Hokkaido I. U. VI 7, 306 (1941).

Sous-famille	Espèce	2 N	Hétérochromosomes
Gerbillinae	<i>Meriones lybicus</i> Licht.	44	X et Y grands et métacentriques
	<i>Meriones erythrourus</i> Gray.	44	X et Y grands et métacentriques
	<i>Tatera indica</i> Hardwicke	72	X et Y grands et métacentriques
	<i>Gerbillus campestris</i> Lev.	56	X et Y grands et métacentriques
	<i>Cricetulus migratorius</i> P.	22	X et Y grands et métacentriques
Cricetinae	<i>Microtus incertus</i> Selys	46	X métacentrique, Y punctiforme
Microtinae	<i>Clethrionomys gapperi</i> Vig.	56	X acrocentrique, Y punctiforme

complètement par ses caractères cytologiques au *C. glareolus* européen.

Voici maintenant quelques rectifications de données antérieures et quelques compléments: Chez *Arvicola scherman* Shaw et *Microtus nivalis* Martins, l'identification des hétérochromosomes par RENAUD¹ (1938) et MATTHEY² (1938, 1947) était erronée. L'*X* et l'*Y* sont métacentriques et la pré-réduction est constante. Chez *M. orcadensis* Millais, où MATTHEY³ (1951) hésitait entre 44 et 46, le nombre diploïde exact est de 46; l'*X* est métacentrique, l'*Y* punctiforme: *M. arvalis*, *M. incertus*, *M. orcadensis* ont exactement la même formule chromosomique et, comme les systématiciens l'admettent, sont des espèces très voisines.

Les Cricetinae néarctiques, *Neotoma floridana* Ord. et *Peromyscus leucopus* Rafin., ont respectivement 52 et 48 chromosomes; les numérations de CROSS⁴ (1931) sont donc exactes. L'*X* est long, acrocentrique, l'*Y* punctiforme. Cytologiquement, les hamsters du Nouveau-Monde sont donc très éloignés de ceux de l'Ancien-Monde et il semble logique de les placer dans une sous-famille spéciale (Sigmodontinae). Enfin, chez l'*Heteromyidae* *Dipodomys merriami* Mearns, il y a non pas 86 chromosomes (CROSS¹, 1931) mais 70 seulement.

R. MATTHEY

Laboratoire de Zoologie de l'Université de Lausanne, le 29 juillet 1952.

Summary

Following the new squash-technic of MAKINO and NISHIMURA, it is now possible to work more quickly and with more accuracy on the chromosomes of mammals. The author has established the cytological conditions in seven species of Muridae and elucidated some doubtful points belonging 15 other species. *Microtus arvalis*, *M. orcadensis* and *M. incertus* have the same formule and must be considered as very akin. The chromosomal set of *Clethrionomys gapperi* (North-America) doesn't differ from that of *C. glareolus* (Europe). Three genera of Gerbillinae exhibit sex-chromosomes of the type found in palearctic Cricetinae.

By *Arvicola scherman* and *Microtus nivalis* a reinvestigation shows that *X* and *Y* are both metacentric. It seems preferable to put *Neotoma floridana* and *Peromyscus leucopus*, likely with the other genera of nearctic Cricetinae, in a special under-family, for they bear no cytological resemblance with the true hamsters of the Old World. *Dipodomys merriami*, an *Heteromyidae*, has 70 and not 86 chromosomes (CROSS, 1931).

There is in none species coexistence of pre- and post-reduction, although pictures of chiasmata may be sometimes observed. The conception of KOLLER and DARLINGTON does not agree with the facts.

¹ P. RENAUD, R. suisse Zool. 45, 349 (1938).

² R. MATTHEY, J. G. 36, 73 (1938); Sci. Genet. 3, 23 (1947).

³ R. MATTHEY, R. suisse Zool. 58, 201 (1951).

⁴ J. CROSS, J. Morph. 52, 373 (1931).

Crossing-over between Alleles at the *w* Locus in *Drosophila melanogaster*

Work in this Department in the last few years has had as its main objective the investigation of the relationship

between arrangement and function of genes¹. As a result of this work, it was found among other things that crossing-over between alleles occurs in the mould *Aspergillus nidulans*².

The list of reported cases of crossing-over between alleles in other organisms is growing very rapidly, and a pressing question is how general a property of genes this happens to be. In some of the examples available in the literature, the loci investigated were studied thoroughly precisely because in the course of previous breeding experiments unexpected types had been obtained. This is true, e.g., for the *lz* locus in *Drosophila*, perhaps the most completely analysed example of this kind³. These selected loci cannot be included, of course, in a survey to infer how widespread crossing-over between alleles is. However, the following loci were adequately investigated apparently without previous knowledge of this kind. They constitute, therefore, an unselected sample: *S-ast*, *Sb-sbd* and *bx-bxd* (E. B. LEWIS⁴), *sn* and *ras* (IVES and NOYES⁵), and *v* (GREEN⁶) in *Drosophila*; *bi* and *paba* (ROPER⁷), and *ad₁-ad₃* (PONTECORVO⁸) in *Aspergillus*; *i* (GILES⁹) in *Neurospora*; *G-S* in cotton (STEPHENS¹⁰); *R* (STADLER¹¹) in maize; and *S* (D. LEWIS¹²) in *Oenothera*. Crossing-over between alleles was detected in 10 out of these 13 loci, the negative ones being *ras*, *R* and *S*.

We thought that an ideal unselected locus for a search for crossing-over between alleles was *w* in *Drosophila*: at this classical locus a large number of alleles are known, with distinguishable and pleiotropic effects, suitable closely linked markers can be placed on both sides and the cytological situation does not suggest any peculiarity. As described below we have succeeded in obtaining cross-overs between alleles among the first 5,000 gametes from two heterozygous combinations (*w/w^{bl}* and *w/w^{co}*) out of eight tested (*w/w^{sat}*; *w/w^{bf₃}*; *w^e/w^a*; *w^e/w^{sat}*; *w^e/w^{bl}*; *w^e/w^h*, and the two already mentioned) with eight different alleles in all.

The experimental procedure was the following. Indicating with *w^x* and *w^y* any two mutant alleles, females of constitution

$$\begin{array}{l} sc\ w^x\ ec\ cv \\ +\ w^y\ +\ + \end{array}$$

or of constitution

$$\begin{array}{l} y\ w^x\ ec \\ +\ w^y\ + \end{array}$$

were crossed to males *sc w^x ec cv*, or *y w^x ec*, respectively, and the progeny examined for eye colours different from

¹ G. PONTECORVO, Biochem. Soc. Sym. 4, 40 (1950); Advances in Enzymology 13, 121 (1952); Sympos. Soc. Exp. Biol. 6, 218 (1952); Advances in Genetics 5 (in the press); Sympos. Soc. Exp. Biol. 7 (in the press).—J. A. ROPER, Nature 166, 956 (1950); Exper. 8, 14 (1952); Advances in Genetics 5 (in the press).

² G. PONTECORVO, Advances in Genetics 5 (in the press).—J. A. ROPER, Nature 166, 956 (1950); Advances in Genetics 5 (in the press).

³ C. P. OLIVER and M. M. GREEN, Genetics 29, 331 (1944).—M. M. GREEN and K. C. GREEN, Proc. Nat. Acad. Sci. 35, 586 (1949).

⁴ E. B. LEWIS, Cold Spring Harb. Sympos. Quant. Biol. 16, 159 (1952).

⁵ P. T. IVES and D. T. NOYES, Anat. Rec. 3, 257 (1951).

⁶ M. M. GREEN (personal communication).

⁷ J. A. ROPER, Nature 166, 956 (1950); Exper. 8, 14 (1952); Advances in Genetics 5 (in the press).

⁸ G. PONTECORVO, Advances in Genetics 5 (in the press).

⁹ N. H. GILES, Cold Spring Harb. Sympos. Quant. Biol. 16, 283 (1952).

¹⁰ S. G. STEPHENS, Cold Spring Harb. Sympos. Quant. Biol. 16, 131 (1952).

¹¹ L. J. STADLER, Cold Spring Harb. Sympos. Quant. Biol. 16, 49 (1952).

¹² D. LEWIS, Heredity 3, 339 (1949).

those of w^x , w^y or w^x/w^y . In the experimental crosses carried out so far the classification was discontinued after examining about 5000 flies unless at least one new type had arisen among them. In two of the crosses indicated below new types did actually arise and, in order to make sure that they were not accidental, a further large number of progeny was classified. We propose, of course, to re-examine at a later date further progeny from the combinations which gave negative results in the first sample of 5000.

Results of backcrosses of females heterozygous for two white alleles

Genotype of backcrossed females	No. of progeny examined	No. and genotype of unusual types
$\frac{sc\ w\ ec\ cv}{+ w^{sat} +}$	5,000	0
$\frac{sc\ w\ ec\ cv}{+ w^{bl} +}$	38,225	$\left\{ \begin{array}{l} 3\ sc\ \text{males} \\ 2\ \frac{sc + + +}{sc\ w\ ec\ cv}\ \text{females} \end{array} \right.$
$\frac{sc\ w\ ec\ cv}{+ w^{bf_2} +}$	5,000	0
$\frac{sc\ w\ ec\ cv}{+ w^{co} +}$	21,067	$\left\{ \begin{array}{l} 2\ sc\ \text{males} \\ 3\ \frac{sc + + +}{sc\ w\ ec\ cv}\ \text{females} \end{array} \right.$
$\frac{y\ w^e\ ec}{+ w^a +}$	5,000	0
$\frac{y\ w^e\ ec}{+ w^{sat} +}$	5,000	0
$\frac{y\ w^e\ ec}{+ w^{bl} +}$	4,881	0
$\frac{y\ w^e\ ec}{+ w^h +}$	4,847	0
	89,020	10

It will be noted that out of 89,020 flies examined the ten which have a wild-type allele are all cross-overs between sc and ec . If the wild-type allele had arisen independently of crossing-over, we would have expected only one in twenty to be cross-overs, the map distance between sc and ec being 5.5. Furthermore, in each cross not all the cross-overs should be of one type. Even without this, the probability of our results being due to accidental coincidence of back-mutation and crossing-over is exceedingly small. We can conclude that crossing-over is not independent, and is probably the cause, of the origin of the wild-type allele in the two crosses given above. It is to be noted, furthermore, that not one case of origin of the wild-type allele without crossing-over has been obtained in the 89,020 flies examined: clearly the rate of back-mutation is not unduly high.

These preliminary results only show that crossing-over between certain alleles at the w locus occurs and is correlated with the origin of a new allele. We are now continuing an extensive search with other combinations, particularly of alleles with intermediate effects from which it is hoped to be able to distinguish phenotypically both reciprocal types of recombinant. Should it be possible to exclude unequal crossing-over, this new addition to the list of *unselected* loci where crossing-over between alleles has been observed, would further support

the idea that this is a very widespread property of genes¹.

M. ELAINE MACKENDRICK and G. PONTECORVO

Department of Genetics, University of Glasgow, July 14, 1952.

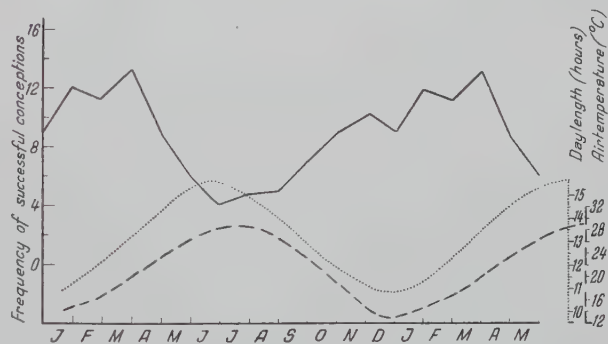
Zusammenfassung

An einem besonders günstigen Beispiel (w -Locus von *Drosophila melanogaster*) soll zur Klärung der Frage beigetragen werden, wie weit Crossing-over zwischen Allelen ein allgemein genetisches Phänomen darstellt. Es wurden vorläufig 8 heterozygote Kombinationen von 8 Allelen geprüft, wobei die Chromosomen mit sc , ec , cv oder y , ec markiert waren. Bisher wurden Ausnahmestiere (Entstehung neuer Allele) bei w , w^{bl} und w , w^{co} gefunden, und zwar 10 von 59 292 Fliegen. Da alle 10 Fliegen gleichzeitig Crossovers zwischen sc und ec sind, entstehen die Ausnahmetypen offenbar durch Crossing-over und nicht durch Rückmutation. Weitere Versuche sind jedoch nötig, um sicherzustellen, dass es sich nicht um ungleiches Crossing-over handelt.

¹ G. PONTECORVO, Sympos. Soc. Exp. Biol. 7 (in the press).

Frequency of Successful Conception under Free Mating Conditions in the Egyptian Buffaloes

Seasonal changes in the conception percentage has been recorded in many species; i.e. in monkeys (CORNER¹), in mares (HAMMOND²) and in ewes (YEATES³). In cattle, environmental temperature affects reproduction (ANDERSON⁴), while daylight is also an important factor in this respect (MERCIER and SALISBURY⁵).



Frequency of successful conceptions in the buffalo in relation to air temperature and daylength (30°N).

— Frequency of successful conceptions.
..... Daylength (hours).
----- Air temperature (°C).

The number of animals used in the present investigation was 772 female buffaloes ranging in age from 2 to 10 years. These observations were recorded at a breeding farm in the North of Delta. The animals were fed green fodder during winter months and concentrates during

¹ G. W. CORNER, Amer. Scientist. 39, 50 (1951).

² J. HAMMOND, Nature London 153, 702 (1944).

³ N. T. M. YEATES, Nature London 160, 429 (1947).

⁴ J. ANDERSON, Ist. int. Congr. Physiol. Path. Reprod. Milano (1948).

⁵ E. MERCIER and G. W. SALISBURY, J. Dairy Sci. 10, 747 (1947).

summer months. They were kept with fertile bulls all the time and coitus took place at every possible oestrus period. Signs of oestrus in buffaloes were similar to those observed in cows. Dates of successful conceptions were calculated by subtracting the length of pregnancy (317 days) from the dates of parturitions.

The results of this study indicate that the maximum percentage of successful conceptions occurred during the months of October, November and December, while the minimum was during the months of July, August and September (Fig.). It is also noted that the frequency of successful matings was reversely related to both air temperature and daylength. It would seem difficult to decide which of these two factors played a greater role than the other, possibly the two were interacting.

The high percentage of successful matings during October, November and December might be attributed to the mild weather associated with the high nutritive value of the green feed (*Trifolium alexandrinum*) abundantly available during this period. Since the average gestation period for Egyptian buffaloes is 315 to 317 days (BADRELDIN¹, and RAGAB and ASKER²), the buffaloes conceiving during October, November and December calve during September, October and November. These months are the most favourable for both the dams and offspring.

A. L. BADRELDIN

Faculty of Agriculture, Fouad I University, Cairo,
May 18, 1952.

Zusammenfassung

Die Häufigkeit erfolgreicher Konzeptionen der ägyptischen Büffel schwankt während des ganzen Jahres; das Maximum wird jedoch erreicht zwischen Oktober und Dezember. Die Lufttemperatur und das Tageslicht sowie eventuell die Ernährung sind die Hauptfaktoren, welche dieses Phänomen beeinflussen.

¹ A. L. BADRELDIN, Ist. int. Congr. Physiol. Path. Reprod. Milano (1948).

² M. T. RAGAB and A. A. ASKER, Indian J. Dairy Sci. 4, 159 (1951).

Neues zur Optomotorik der Insekten

Über die Optomotorik der Insekten sind in den letzten 20 Jahren viele Arbeiten erschienen, aber die meisten Autoren benützen die optomotorischen Reaktionen nur dazu, um andere Besonderheiten des Auges, zum Beispiel das Farbsehen, die Sehschärfe, usw. zu ergründen. Über das Wesen der Optomotorik selbst ist dagegen weniger gearbeitet worden.

Ein Spezialproblem besonderer Art, mit dem wir uns seit längerer Zeit beschäftigen, ist die Frage, inwieweit die retinalen Bildverschiebungen, die bei der Eigenbewegung des Insekts notwendigerweise entstehen, optomotorisch wirksam sind. Manche Autoren neigen heute zu dem Urteil, dass sie es nicht sind. Diese Auffassung geht schliesslich auf ein Experiment zurück, das HERTZ 1934 veröffentlicht hat. Sie zerlegte die optomotorische Trommel in zwei senkrecht übereinanderstehende Hälften, von denen die eine gedreht wurde, während die andere stillstand. Sie fand, dass das Insekt sich nur nach der gedrehten Trommelhälfte richtet, und schloss hieraus: «Damit scheint mir noch einmal in drastischer Form gezeigt, dass die optomotorischen Reaktionen durch die optische Wahrnehmung von äusseren Bewegungsvorgängen bestimmt sind und dass zum mindesten für die

Fliege retinale Bildverschiebung und äussere Objektbewegung nicht identisch sind.»

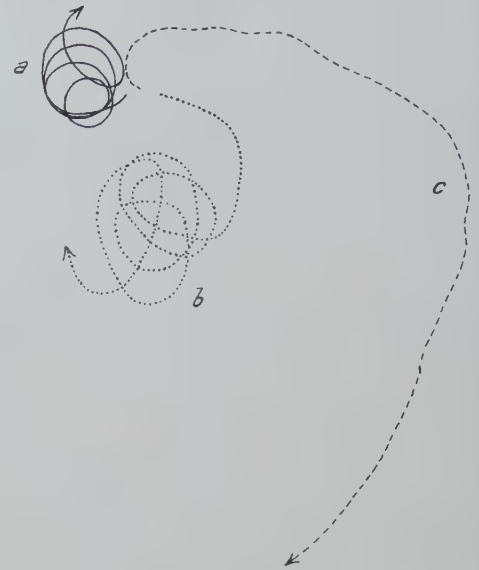


Abb. 1. *Calandra oryzae*, Lauf bei Rechtsdrehung des grossen Streifenzyllinders: a ohne Innentrommel, b weisse Innentrommel, c schwarz- Weiss gestreifte Innentrommel

Wir halten diesen Versuch nicht für einwandfrei und haben es unternommen, das Problem auf andere Weise zu lösen. Das Insekt (in diesem Falle der Rüsselkäfer *Calandra oryzae*) wird in die Mitte der Streifentrommel (25 cm Höhe) gesetzt und dieselbe mit tunlichst konstanter Geschwindigkeit gedreht. Es ergibt sich, dass der Käfer in ziemlich kleinen Kreisen der Drehung folgt. Im Gegenversuch wird auf das Laufbrett des Insekts eine weisse Innentrommel von 5 cm Höhe gestellt, die stillsteht. Wir sehen nunmehr, dass die Kreise weiter werden, offenbar weil die untere Partie der Streifentrommel verdeckt ist und der von ihr ausgehende Reiz geringer geworden ist. Im dritten Versuch ersetzen wir die weisse Innentrommel durch eine gleich niedrige, senkrecht schwarz- Weiss gestreifte. Nunmehr ist die Wirkung der gedrehten Aussentrommel nahezu erloschen, das Tier kriecht einigermaßen geradeaus (Abb. 1). Damit ist bewiesen, dass von der Streifung der stillstehenden Innentrommel eine hemmende Wirkung auf die optomotorische Reaktion gegenüber der Aussentrommel ausgeht. Mit dieser Feststellung ist der Hertzsche Versuch widerlegt¹.

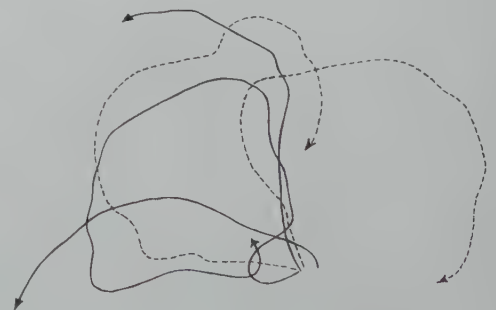


Abb. 2. *Calandra oryzae*, rechts geblendet, Lauf in ruhender Trommel: Trommel weiss; — Trommel vertikal gestreift (Streifenbreite von 3,5 cm)

¹ M. HERTZ, Z. vgl. Phys. 20 (1934).

Über die Wirkung der retinalen Bildverschiebungen, die durch die Eigenbewegungen entstehen, erfahren wir jedoch auf diese Weise nichts Entscheidendes. Dagegen gibt eine andere Versuchsanordnung hierzu die Möglichkeit. Durch einen Zufall wurden uns zwei Käferarten bekannt, die bei grosser sonstiger Übereinstimmung sich in einem Punkte unterscheiden. Beim einseitig geblendeten Tier kann man sich davon überzeugen, dass *Calandra oryzae* in der Trommel sowohl auf Drehungen von vorn nach hinten als auch auf solche von hinten nach vorn reagiert. *C. granaria* dagegen spricht nur auf diese letzten an und reagiert nicht, wenn die Bewegungen von vorn nach hinten über das Auge weglaufen. Bei dieser zweiten Art kann also mit grosser Bestimmtheit behauptet werden, dass die retinalen Bildverschiebungen bei Eigenbewegungen, die ja stets von vorn nach hinten verlaufen, keine Rolle spielen. Bei *Calandra oryzae* ist dagegen ihre Wirksamkeit immerhin möglich.

Der folgende Versuch beweist, dass sie in der Tat von Einfluss sind. Setzt man eine rechts geblendete *C. granaria* in eine grosse weisse Trommel von 35 cm Durchmesser, so kriecht sie im Kreise nach rechts herum. Genau das gleiche geschieht, wenn man dasselbe Tier in eine ebenso grosse Trommel setzt, die mit schwarz-weißen, äquidistanten, senkrechten Streifen versehen ist. Bei *Calandra oryzae* ergibt genau das gleiche Experiment einen interessanten Gegensatz. In der weissen Trommel läuft das Tier im Bogen nach rechts, in der schwarz- Weiss gestreiften im Bogen nach links. Dieses durchaus unerwartete und paradoxe Resultat ist kaum anders zu erklären als durch die Annahme, dass in der stehenden, gestreiften Trommel die retinalen Bildverschiebungen bei der Vorwärtsbewegung so wirken, als ob die Aussentrommel linksherum gedreht würde.

Die Versuche werden fortgesetzt und erweitert.

W. V. BUDDENBROCK UND INGRID MOLLER-RACKE

Zoologisches Institut der Universität Mainz, den 10. Juni 1952.

Summary

(1) It was shown that the optomotoric reaction of the Coleoptera *Calandra oryzae* is influenced by the existence of a stationary striped cylinder, placed inside the rotated cylinder.

(2) It can be demonstrated that *Calandra oryzae*, when walking in a stationary striped cylinder, reacts to the retinal image shift produced by the movement of the insect itself.

A Note on the Jelly-Coat-Sperm Interaction in Sea-Urchin

The presence of a mucopolysaccharidase in extracts of sea-urchin sperm has been reported, and it has been suggested that this enzyme may be instrumental in allowing the sperm to penetrate the jelly-coat surrounding the egg¹. VASSEUR² has also suggested that the jelly-coat splitting enzyme may be located at the surface of the sperm. He has found that on addition of living sperm to a jelly-coat solution only a slight decrease of viscosity of the latter occurs; if, however, a small amount of octyl alcohol is added, a sudden conspicuous decrease

is observed. VASSEUR assumes that in the reaction between jelly-coat and enzyme an enzyme-substrate complex results at the surface of the sperm. With incomplete destruction of the substrate, some of the split products still adhere to the surface of the sperm and inhibit any further activity of the enzyme. On addition of octyl alcohol, this latter will combine with the inhibitory groups and release the split products from the surface of the sperm. Thus the enzyme will be ready for a further attack on the substrate.

The experiments to be reported here do not seem, however, to confirm this interpretation and furthermore do not seem to indicate enzymatic splitting of the jelly-coat by the sperm.

Table I

Experiment No.	η sp Control	η sp 5 min after addition of sperm	Sperm washed; further jelly added; η sp	η sp upon addition of octyl alcohol
4	1.19	0.63		
8	1.05	0.42		
6	1.25	0.58	1.22	
10	0.71	0.28	0.76	0.06

Sperm and jelly-coat (prepared according to TYLER¹) of *Arbacia lixula* were used. Spontaneously shed sperm (obtained on cutting the shells) was washed twice in sea-water and centrifuged at high speed in the cold for 5 minutes to pack it tightly at the bottom of the tube, and the supernatant water pipetted off. Controls were set up for each experiment using the same jelly solution to be used for the experiment. The centrifuged sperm was added to samples of jelly solution and the suspension stirred for a couple of minutes. The strongly agglutinated sperm was centrifuged in the cold as before and the viscosity of the clear supernatant was measured in OSTWALD viscosimeters at 25°C. We should like to emphasize that in order to obtain clear-cut results freshly prepared jelly solutions must be used.

As indicated in Table I, a sudden decrease of viscosity of the jelly-coat solution occurs upon addition of sperm. Irrespective of the amount of sperm added, the drop in viscosity occurs within the first few minutes after mixing and then remains practically unchanged. This result is in keeping with those of VASSEUR although in our experiments the decrease in viscosity was greater.

Table II

Experiment No.	η sp control	Length of the fixation of the sperm	η sp upon addition of fixed sperm
13	1.06	10 min	0.85
18	0.77	15 min	0.35
19	1.02	24 h	0.52

Sperm were fixed in 25–50% alcoholic Bouin and then dialysed against sea-water to remove the fixative.

If after the reaction the jelly is removed, the sperm thoroughly washed with sea-water and further jelly added, not the slightest effect can be observed (Experiments 6 and 10 of the Table). At this point, the addition of a few drops of octyl alcohol causes a sudden and strong

¹ A. MONROY and A. RUFFO, Nature 159, 603 (1947). – G. LUND-BLAD and A. MONROY, Ark. Kemi 2, 343 (1950).

² E. VASSEUR, Exp. Cell Res. 2, 144 (1951).

¹ A. TYLER, Amer. Natur. 83, 195 (1949).

drop in viscosity, much stronger indeed than that obtained even by addition of a large amount of sperm (Experiment 10 of the Table). However, microscopic observation of the sperm shows that they have been seriously damaged. Immediately following the addition of octyl alcohol, the head of the sperm swells up and afterwards breaks up into small fragments. When the sperm are centrifuged off, the jelly solution appears to be strongly opalescent. These observations suggest that the effect of octyl alcohol may well be due to the liberation of nuclear material from the broken-up sperm heads causing a microprecipitation of the jelly and hence a drop in viscosity.

Furthermore it has recently been reported that fixed spermatozoa can still be agglutinated by jelly-coat solution¹. Our experiments reported in Table II show that they are also able to split the jelly coat.

These results contraindicate the assumption that the splitting of the jelly-coat by the sperm is an enzymatic reaction. The fact that mucopolysaccharidase activity has been found in sperm extracts does not necessarily mean that the enzyme must be operative in the physiological process of the splitting of the jelly-coat. We rather think that in the reaction of the sperm with the jelly-coat some surface groups of the sperm react with some groups of the jelly. Fragments of the jelly would thus be detached, each fragment binding two spermatozoa. Thus an agglutination of the sperm results which is paralleled by a depolymerization of the jelly. In the normal course of events, namely when the sperm after crossing the jelly-coat enters the egg, we may assume either that it carries into the egg parts of the jelly bound to its surface, or in any case that it is a modified sperm surface that is involved in the reaction, as is shown by the fact that spermatozoa once agglutinated cannot be reagglutinated². To decide between these two possibilities may be very important for the knowledge of the biochemical mechanisms underlying fertilization.

The experiments described in this paper were carried out at the Zoological Station, Naples. We wish to thank Dr. R. DOHRN for the use of the facilities of the Station and Dr. P. DOHRN for his friendly cooperation.

A. MONROY and LUISA TOSI³

Institute of Comparative Anatomy, University of Palermo, May 1, 1952.

Zusammenfassung

Es werden Experimente beschrieben, die gegen eine enzymatische Spaltung der Gallerthülle des Seeigels durch Spermatozoen sprechen.

¹ C. B. METZ and J. DONOVAN, Biol. Bull. 101, 202 (1951).

² A. TYLER, Biol. Bull. 81, 190 (1941).

³ Permanent address: Istituto di Zoologia, Università di Milano, Italy.

Morphinantagonisten

In neueren Veröffentlichungen der amerikanischen Literatur¹ wird berichtet, dass N-Allyl-normorphin (I) die atemhemmende Wirkung morphinartig wirksamer Pharmaka aufhebt. (–)-N-Allyl-3-oxymorphinan (II),

¹ Chem. Engin. News 29, 5058, 26. November 1951. – J. E. ECKENHOFF, Amer. J. Med. Sci. 223, 191 (1952). – A. WIKLER, R. L. CARTER, H. F. FRASER und H. ISBELL, Federation Proc. 11, 1. Teil, 402, März 1952. – K. UNNA, J. Pharmacol. Exper. Therap. 79, 27 1943.

das chemisch dem «Dromoran» [(–)-N-Methyl-3-oxymorphinan] entspricht wie (I) dem Morphin, hebt ebenfalls die hemmende Wirkung des Morphins auf die Atmung auf. Die antagonistische Wirkung von (II) ist ebenso gegen Morphin wie gegen Dromoran oder andere Präparate der pharmakologischen Gruppe des Morphins gerichtet. Abbildung 1 zeigt die Aufhebung der Atem-

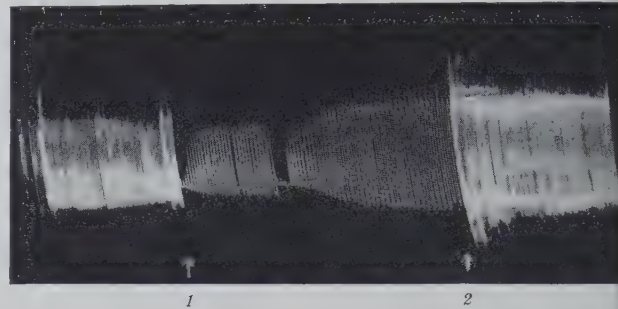


Abb. 1. Kaninchen ohne Narkose. Atmung: Nasenkanüle. Bei 1: Morphin 15 mg/kg i. v., bei 2: 0,1 mg/kg (–)-N-Allyl-3-oxymorphinan i.v.

hemmung nach 15 mg/kg Morphin durch 0,1 mg/kg (II) i.v. am nicht narkotisierten Kaninchen bei direkter Registrierung mit Nasenkanüle. Die zur Wirkung erforderlichen Dosen des Antagonisten sind 1/100 bis 1/200 der Dromoran- bzw. Morphindosen. Auch an der Katze in Numalnarkose erregen kleine Dosen von (II) die durch Morphin oder Dromoran gehemmte Atmung. (+)-N-Allyl-3-oxymorphinan, die (II) entsprechende rechtsdrehende Verbindung (III), lässt die Atemhemmung durch Morphin oder verwandte Präparate völlig unbeeinflusst.

Der Antagonismus betrifft auch die analgetische Wirkung. An der Ratte mit der Brennglas- und nach HARDY und WOLFF geprüfte (Tabelle) hebt (I) die analgetische Wirkung der 60fachen Dose Morphin auf, schwächt aber die der 100fachen Dose Morphin nur ab. Die rechtsdrehende Verbindung (III) lässt die analgetische Wirkung von Dromoran auch bei massiver Überdosierung unbeeinflusst. Die linksdrehende Verbindung (II) hebt die analgetische Wirkung der 5fachen Dose Dromoran auf und schwächt die der 20fachen Dose Dromoran ab. Auch die bereits entwickelte analgetische Wirkung von Morphin wird durch eine nachträgliche Injektion von (I) rasch aufgehoben. Die bei (II) gefundenen Dosenverhältnisse deuten auf die Möglichkeit hin, bei Aufhebung der Atemhemmung eine noch ausreichende Analgesie zu erhalten.

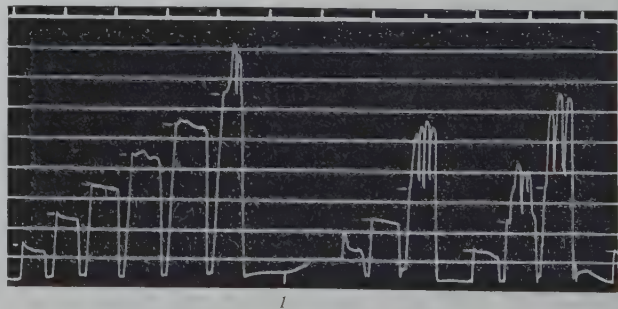


Abb. 2. Meerschweinchen, Urethannarkose. Innendruck einer Dünnarmschlinge in Zentimeter Wasser (auf die Hälfte verkleinert). Abstand der Linien: 1 cm Wasserdruck. Jeweils bis «» Innendruck künstlich erhöht. Über «» reflektorische Peristaltik. Beginn: unter Morphin 0,1 mg/kg i.v. Bei 1 0,2 mg/kg (–)-N-Allyl-3-oxymorphinan i.v. Oben: Zeit in Minuten.

Analgetische Wirkung an der Ratte, Mittel aus je 5–10 Einzelversuchen

Morphin mg/kg	Antagonisten mg/kg	Reaktionszeit in Sekunden						
		vor	nach					
			15'	30'	60'	90'	120'	150'
15	0	2,4	3,3	8,0	10,2	7,2	4,6	2,4
15	(I) 0,25	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,4	
15	(I) 0,15	2,4	2,4	5,0	3,7	3,0	3,0	2,4
15	–	2,4	3,7	8,2	–	–	–	–
–	W + (I) 0,5	–	–	–	→ 2,8	2,5	2,4	
Dromoran								
5,0	0	3,5	6,1	10,0	7,4	8,7	5,2	3,6
5,0	(II) 1,0	3,1	3,1	3,1	3,2	3,2	3,1	3,1
5,0	(II) 0,25	2,7	3,1	3,4	8,0	6,1	5,0	2,9
5,0	(III) 50,0	2,8	4,7	7,6	12,3	9,6	5,8	3,7

Die Lähmung des Dehnungsreflexes des Meerschweinchendarms *in situ* nach STRAUB und LEO¹ ist eine periphere neurale Wirkung von Präparaten der pharmakologischen Gruppe des Morphins. Abbildung 2 zeigt die Erhöhung der Reizschwelle auf 7 cm Wasserdruck durch Morphin. Intravenöse Injektion von (II) setzt diese Reizschwelle rasch wieder auf 1 bis 2 cm Wasserdruck herab. Auch hier genügt 1 mg des Antagonisten, um die Wirkung von 5 mg Dromoran aufzuheben. Analoge Effekte erzielt man auch gegen andere Präparate mit Morphinwirkung.

Die charakteristische Schwanzreaktion an der Maus und der zerebrale Erregungszustand der Katze nach Morphin werden durch (II) aufgehoben: das aufgeregt und halluzinierend umherspringende Tier sitzt nach der Injektion von (II) ruhig; der Gang ist langsam und normal koordiniert. Dieser Effekt entspricht dem Auftreten von Abstinenzerscheinungen bei Morphinsüchtigen durch Injektion von (I), wie von WIKLER c.s. (a.a.O.) beschrieben.

Ohne Einfluss sind die Antagonisten gegen die toxischen Wirkungen von Morphinpräparaten an Kaninchen und Mäusen, die durch allgemeine Krämpfe bestimmt sind: die letalen Dosen bleiben da unbeeinflusst: Die antagonistischen Wirkungen sind nur gegen die *spezifischen* morphinartigen Wirkungen gerichtet und dürften als Verdrängungserscheinungen aufzufassen sein.

K. FROMHERZ und B. PELLMONT

Pharmakologisches Laboratorium der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, den 24. Juli 1952.

Summary

Levorotatory (–)-N-allyl-3-hydroxymorphinan (II) neutralizes the inhibitory action on respiration of about 100fold larger doses of morphine and morphine-like drugs, a property previously established for N-allyl-normorphine (I). On the other hand, both of these two compounds neutralize the analgesic action. Considering these proportions of activity, it should be possible to find a dosage of (–)-N-allyl-3-hydroxymorphinan which neutralizes respiratory inhibition without preventing analgesia. It seems that the margin between the anti-analgesic and the anti-asphyxial dose of (I) against morphine is smaller than the com-

parative margin of (II) against Dromoran. In our opinion, this wider therapeutic margin between anti-respiratory-inhibiting (or anti-asphyxial) activity and anti-analgesic activity presents a definite advantage of (II).

(–)-N-allyl-3-hydroxymorphinan antagonizes also other specific morphine actions, such as inhibition of the dilatation reflex of the guinea-pig's small intestine and the cerebral excitement in cats, but does not antagonize the general spasm-producing action in mice and rabbits. The lethal doses for the latter two species are, therefore, not affected by morphine antagonists. Dextrorotatory (+)-N-allyl-3-hydroxymorphinan shows no antagonistic properties. The antagonistic activity might be due to competition with morphine and Dromoran at specific sites of action.

La réaction plasmocytaire dans l'intoxication des mammifères par le DDT et par le diphénylméthane

Nous avons étudié¹ les lésions que produisent dans l'organisme du chien des injections intramusculaires répétées de p-p'-dichloro-diphényl-trichloréthane ou DDT. Cette substance était administrée en solution huileuse à 10 % à raison de 100 mg/kg par jour, pendant 25 à 30 jours. Des chiens témoins recevaient les mêmes volumes d'huile d'olive. Les animaux traités par le DDT ne manifestaient guère de signes d'intoxication, sauf une perte de poids transitoire. A l'autopsie, on observait une décoloration de la surface des reins et la présence de taches et de dépressions blanchâtres irrégulières; des sections montraient que celles-ci se prolongaient par des traînées radiaires blanches.

L'examen histologique des nodules rénaux a révélé, qu'il s'agit de plasmocytomes. Au voisinage de la capsule, des tubes rénaux sont détruits et remplacés par des amas de lymphocytes, de plasmocytes et de polynucléaires; dans les couches profondes de la corticale et dans la zone médullaire, il n'y a pas de destructions tissulaires, et les nodules sont constitués uniquement de plasmocytes: formes adultes, formes jeunes, plasmocytes

¹ M. A. GEREBTZOFF, M. J. DALLEMAGNE et E. PHILIPPOT, C. r. Soc. Biol. 144, 1135 (1950). – M. A. GEREBTZOFF et M. J. DALLEMAGNE, C. r. Assoc. Anat., 37^e Réunion Louvain 1950 62, 208 (1951).

¹ W. STRAUB und E. LEO, Archiv exp. Path. Pharm. 169, 1 (1933).

en mitose, formes de transition entre le lymphocyte et le plasmocyte et entre le fibrocyte et le plasmocyte.

En plus des lésions rénales, les animaux présentaient une plasmocytose tissulaire généralisée, évidente notamment dans les formations lymphoïdes et surtout dans la rate. Le sang n'avait pas de caractères leucémiques.

Dans le foie de ces chiens, on trouvait de petits foyers nécrotiques centrolobulaires et la surcharge lipidique de quelques rares cellules parenchymateuses.

Nous avons précisé le déterminisme de la transformation plasmocytaire en utilisant des substances de structure chimique plus simple¹. Le DDA ou acide p-p'-dichloro-diphényl-acétique n'a donné aucune plasmocytose. Par contre, le diphényl-méthane, injecté au chien par voie intramusculaire en solution huileuse à 20 %, à raison de 100 mg/kg par jour, s'est montré plus toxique que le DDT et a produit des lésions identiques: plasmocytose généralisée avec localisation principale au niveau du rein. Le DDT technique nous avait donné des résultats plus constants que le DDT pur. On peut donc y soupçonner la présence de diphényl-méthane ou de substances voisines de celui-ci plus actives que le DDT. Le phényl-méthane ou toluol ne donne pas de plasmocytose; de même que le benzol, il provoque une anémie mégalo-blastique.

Par conséquent, chez le chien, la transformation plasmocytaire peut être déterminée par l'introduction dans l'organisme du diphényl-méthane ou de ses produits de substitution à élimination lente, comme le DDT.

Nous nous sommes demandés si ce phénomène pouvait être reproduit chez d'autres espèces. Des injections intramusculaires de DDT (prolongées bien au delà des 30 injections que nous faisons précédemment au chien) n'entraînent pas chez des lapins une réaction plasmocytaire nette. Par contre, les foyers nécrotiques centrolobulaires dans le foie sont très importants et constituent la seule lésion trouvée chez ces animaux dans nos conditions expérimentales.

Chez le rat, les injections de diphényl-méthane tuent l'animal en quelques semaines. Les lésions sont d'un type intermédiaire entre celles du chien et celles du lapin. Il n'y a pas de plasmocytomes rénaux multiples, mais la réaction plasmocytaire existe, surtout au niveau de la rate. D'autre part, la nécrose hépatique est très étendue.

Les lésions hépatiques sont donc l'élément le plus constant dans l'intoxication par ces substances. Elles ont été décrites par des auteurs qui ont travaillé sur des espèces très différentes², allant de la souris au singe; elles ont été retrouvées chez l'homme³. FITZHUGH et NELSON⁴ ont constaté qu'une ingestion très prolongée de DDT a parfois produit, chez des rats, l'apparition d'adénomes hépatiques.

D'autres organes ont subi, d'après les recherches des différents auteurs, des atteintes plus ou moins marquées;

il en est ainsi pour les reins¹. Dans les reins de rats traités par le diphényl-méthane, nous avons observé la dégénérescence de quelques tubes contournés et la présence de travées fibreuses épaisses. Mais la réaction plasmocytaire ne semble pas avoir attiré l'attention. Cependant, HILL et DAMIANI² ont observé, chez l'homme, de la plasmocytose splénique dans un cas de réaction allergique fatale au DDT. Il est possible que la différence dans l'intensité de la réaction plasmocytaire soit liée au comportement de l'organisme en face de substances étrangères, certaines espèces mobilisant d'avantage les défenses cellulaires, d'autres les défenses sériques.

Enfin, dans nos expériences, seuls les rats ont présenté des signes neurologiques: tremblement, instabilité, convulsions. Chez ces animaux, nous avons trouvé des lésions du système nerveux central. De nombreux neurones sont gravement atteints. Le corps cellulaire est gonflé; le cytoplasme est pâle, et la substance chromatique y forme un réseau fin; il n'y a pas de dépôt de graisses entre les mailles de ce réseau. Le noyau est souvent refoulé à la périphérie de la cellule et il est parfois pycnotique. Ces aspects ne rappellent donc ni la chromolyse classique ni la dégénérescence graisseuse que nous avons décrites chez les animaux intoxiqués par l'hexachlorocyclohexane³. Ces lésions prédominent dans les cellules de PURKINJE et dans les noyaux centraux du cervelet. Elles existent aussi dans la corne antérieure de la moelle, dans certaines régions du tronc cérébral et même au niveau des cellules pyramidales de l'écorce cérébrale.

Le point d'attaque principal du diphényl-méthane est donc cérébelleux, comme l'ont montré, pour le DDT, HAYMAKER, GINZLER et FERGUSON⁴. Mais il y a également une atteinte diffuse de l'ensemble du système nerveux central, atteinte que faisaient prévoir déjà des recherches d'intoxication par le DDT⁵.

On voit donc que les lésions dues à l'intoxication par le DDT et par les substances voisines sont très variables suivant l'espèce animale utilisée. Nos recherches montrent nettement cette variabilité pour la réaction plasmocytaire.

M. A. GEREBTZOFF et E. PHILIPPOT

Instituts d'anatomie et de thérapeutique expérimentale de l'Université de Liège, le 28 juillet 1952.

Summary

Chronic intoxications of dogs, rats and rabbits by DDT and by diphenyl-methane show a great variability in the pathology of the different species. While hepatic lesions are present in the three species, only the rats treated with diphenyl-methane had nervous lesions. Plasmocytosis is very marked in dogs, less conspicuous in rats and practically absent in rabbits.

¹ M. A. GEREBTZOFF et E. PHILIPPOT, C. r. Soc. Biol. (1952), sous presse.

² R. D. LILLIE et M. J. SMITH, Publ. Health. Rep. 59, 979 (1944). - P. A. NEAL, W. F. VON OETTINGEN, W. W. SMITH, R. B. MALMO, R. C. DUNN, H. E. MORAN, T. W. SWEENEY, D. W. ARMSTRONG et W. C. WHITE, Publ. Health Rep. Suppl. 177 (1944). - P. A. NEAL, W. F. VON OETTINGEN, R. C. DUNN et N. E. SHARPLESS, Publ. Health Rep. Suppl. 183 (1945). - A. A. NELSON, J. H. DRAIZE, G. WOODWARD, O. G. FITZHUGH, R. B. SMITH et H. O. CALVERY, Publ. Health Rep. 59, 1009 (1944). - M. J. SMITH et E. F. STOHLMAN, Publ. Health Rep. 60, 289 (1945). - G. R. CAMERON et F. BURGESS, Brit. Med. J. 23, 865 (1945).

³ N. J. SMITH, J. Amer. Med. Assoc. 136, 469 (1948).

⁴ O. G. FITZHUGH et A. A. NELSON, J. Pharmac. exp. Ther. 89, 18 (1947).

¹ P. A. NEAL, W. F. VON OETTINGEN, W. W. SMITH, R. B. MALMO, R. C. DUNN, H. E. MORAN, T. W. SWEENEY, D. W. ARMSTRONG et W. C. WHITE, Publ. Health Rep. Suppl. 177 (1944). - G. R. CAMERON et F. BURGESS, Brit. Med. J. 23, 865 (1945). - N. J. SMITH, J. Amer. Med. Assoc. 136, 469 (1948). - O. G. FITZHUGH et A. A. NELSON, J. Pharmac. exp. Ther. 89, 18 (1947).

² W. R. HILL et C. R. DAMIANI, New Engl. J. Med. 235, 897 (1946).

³ M. A. GEREBTZOFF et M. J. DALLEMAGNE, Acta Neurol. Psychiat. belgica 50, 121 (1950).

⁴ W. HAYMAKER, A. M. GINZLER et F. L. FERGUSON, Amer. J. Med. Sci. 212, 423 (1946).

⁵ G. R. CAMERON et F. BURGESS, Brit. Med. J. 23, 865 (1945). - R. D. LILLIE, M. J. SMITH et E. F. STOHLMAN, Arch. Pathol. 43, 127 (1947).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Surface-active Quaternary Ammonium Germicides

By CARL A. LAWRENCE
245 pages

(Academic Press Inc. Rubl. New York, 1950)

Nach einer kurzen historischen Einleitung über die Entdeckung der germiziden Eigenschaften der quaternären Ammoniumsalze durch die Schulen von HEIDELBERGER und besonders von DOMAGK gibt der Verfasser chemische, analytische und physikalische Daten. Einem eingehenden Kapitel über die Biologie der antibakteriellen Eigenschaften mit Diskussion der zu ihrer Messung brauchbaren Methoden (von denen keine voll befriedigt) folgt ein Abschnitt über die Pharmakologie und die praktische Anwendbarkeit der quaternären Ammoniumverbindungen in der chirurgischen Desinfektion. Ein Kapitel über die Verwendbarkeit der Verbindungen in der Textilindustrie und anderen Industriezweigen und eine tabellarische Zusammenstellung der Namen und Formeln der heute von verschiedenen Firmen herausgebrachten Präparate schliesst das Buch ab. Das kurz und gewissenhaft geschriebene Buch mit 550 Literaturzitaten ist als Zusammenstellung der weit verstreuten Literatur zu empfehlen.

F. L. BREUSCH

Physical Chemistry of Hydrocarbons

Vol. I. Edited by A. FARKAS
453 pages

(Academic Press, Inc. Publishers, New York, 1950)
(\$ 8.50)

Das Buch, der erste Band einer geplanten Monographie von zwei Bänden, besteht aus Einzelarbeiten nur amerikanischer Autoren, meistens aus den Forschungslaboratorien der Petroleumindustrie.

Der erste Artikel von G. W. WHELAND, über "The chemical bond in hydrocarbon molecules", führt mit Benützung von beträchtlichem mathematischem Rüstzeug in das Kernproblem der organischen Chemie, die Existenzfähigkeit und Stabilität organischer Verbindungen. Weitere Artikel über Röntgenspektroskopie (M. H. JELLINEK), Massenspektroskopie (J. J. MITCHELL), Raman- und Ultraviolettpektren (N. D. COGGESHALL) und elektrische Eigenschaften (A. GEMANT) folgen. Danach kommen Kapitel über Löslichkeits- und kritische Lösungseigenschaften (A. W. FRANCIS) und über Schmelzpunktsercheinungen (M. R. CINES) von Kohlenwasserstoffen. Zuletzt folgt ein Artikel über thermodynamische Gleichgewichte zwischen Kohlenwasserstoffen von F. D. ROSSINI, mit vielen Erläuterungen und Diagrammen.

Die Artikel des Buches, das erneut demonstriert, wie unentbehrlich auch für den organischen Chemiker heute Kenntnis und Beherrschung physikalisch-chemischer Methoden geworden sind, sind mit grosser Sorgfalt geschrieben. Literatur ist bis 1947 berücksichtigt. Das Buch ist sehr gut gedruckt.

F. L. BREUSCH

Handboek der Algemene Erfelijkheidsteorie

Von M. J. SIRKS

5. verbesserte Auflage

644 Seiten, 5 Farbtafeln und 235 Abbildungen
(Verlag Martinus Nijhoff, 's-Gravenhage 1951)
(Geb. fl. 28.50)

Dieses Lehrbuch behandelt die Genetik in 22 Kapiteln. Einleitung, die statistische Methode von JOHANNSEN und die vormendelschen Erblichkeitstheorien beschlagen je einen Abschnitt, worauf die klassische experimentelle Vererbungslehre in sieben Kapiteln folgt. Vier weitere Abschnitte behandeln die Zytogenetik. Besondere Kapitel sind der Plasmavererbung, dem Zeitpunkt der Faktorentrennung, den konstanten Bastarden und der Geschlechtsvererbung gewidmet. Erst dann wird in zwei Abschnitten auf die Mutationslehre eingetreten, unter dem Titel: «Veränderungen der Erbanlagen in Individuen sowie in reinen Linien und Populationen»; hierbei ergibt sich die Gelegenheit, auf den Lamarckismus einzutreten und sich mit dem Mischurchinismus auseinanderzusetzen. Je ein Kapitel über genetische Entwicklungsphysiologie (durch Gene gesteuerte Reaktionsketten während der Entwicklung von Drosophila, Ephestia, Neurospora usw.) und über angewandte Genetik beschliessen den 644 Seiten starken, reich bebilderten Band. Das gewaltige, von der Vererbungsfor schung während und seit dem Weltkriege erarbeitete Tatsachenmaterial ist übersichtlich zusammengefasst in die neue Auflage aufgenommen worden.

Da dieses in holländischer Sprache geschriebene Lehrbuch seit dem Ende des Krieges bereits 3 Neuauflagen erlebt hat (3.-5. Auflage), ist anzunehmen, dass es auch ausserhalb Hollands verwendet wird. Tatsächlich gibt es zur Zeit im deutschen Sprachgebiete kein so ausführliches Lehrbuch der Vererbungslehre für Anfänger.

A. FREY-WYSSLING

The Integument of Arthropods

The chemical components and their properties, the anatomy and development, and the permeability

By A. GLENN RICHARDS
411 pages with 65 figures

(University of Minnesota Press, Minneapolis, 1951)
(\$ 6.-)

Dem Inhalt nach sollte dieses Buch eigentlich "The cuticle of insects" heissen, denn es behandelt im wesentlichen die Insektenkutikula. Diejenige der übrigen Arthropoden sowie die anderen Teile des Integuments (Epidermis und Basalmembran) werden nur beiläufig behandelt. Dem Autor ist daraus kein Vorwurf zu machen; die Behandlung entspricht dem Umfang der entsprechenden Literatur.

Die Erforschung der Kutikula der Insekten ist heute besonders aktuell; denn die Wirksamkeit moderner Insektizide hängt grossenteils davon ab, ob sie die Kutikula durchdringen können. Ihre Struktur und chemische Zusammensetzung ist in den letzten Jahren so intensiv bearbeitet worden, dass die Literatur nun schon fast unübersehbar geworden ist (das Literaturverzeichnis des vorliegenden Werkes enthält auf 77 Seiten gegen

2000 Arbeiten). Das Erscheinen dieser modernen Bearbeitung des Gebietes, die die gesamte Literatur bis 1949 und die wichtigsten, 1950 erschienenen Arbeiten berücksichtigt, wird deshalb allgemein begrüßt werden.

Der erste Teil des Buches (142 Seiten) befasst sich mit der chemischen Zusammensetzung der Kutikula sowie mit den chemischen und physikalischen Eigenschaften der chemischen Komponenten und ihrer Kombinationen.

Ein zweiter Teil (138 Seiten) behandelt die Morphologie und besonders die Feinstruktur der Kutikula, zu deren Erforschung der Autor selbst mit seinen elektronenmikroskopischen Untersuchungen wesentlich beigetragen hat. Dieser Teil befasst sich auch mit dem Häutungsphänomen, der Ablösung der alten und der Sekretion der neuen Kutikula, wobei jedoch die zugrundeliegenden hormonalen Prozesse nur beiläufig erwähnt werden.

Für den Entomologen der Praxis wird vor allem der dritte Teil des Buches (35 Seiten), der die Permeabilität der Kutikula gegenüber Wasser, Gasen, Salzen, Farbstoffen und Insektiziden behandelt, von Interesse sein.

Das sorgfältig abgefasste und schön gedruckte Buch darf jedem Entomologen oder Chemiker, der sich mit den Eigenschaften der Insektenkutikula auseinandersetzen muss, warm empfohlen werden. M. LÜSCHER

Die technischen Grundlagen der kinematischen Zellforschung

Vorschläge für eine exakte wissenschaftliche Mikrokineematographie

Von WILLI KUHLE

185 Seiten, 57 Abbildungen, 118 Einzeldarstellungen (Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1949)

Der Verfasser stellt in seinen Ausführungen die kinematische Zellforschung in den Vordergrund und erörtert in klarer Form, wie diese besondere Methode aktiv in die biologische und medizinische Untersuchung einzuordnen ist. Auf Grund seiner langjährigen Praxis als Leiter des Institutes für kinematische Zellforschung in Frankfurt a. M. kennt er sämtliche Schwierigkeiten, die vor allem auf rein technischem Gebiet bei Untersuchungen zu überwinden sind. Er führt in allen Einzelheiten, auch für mit der Materie nicht Vertraute verständlich, aus, wie diesen Schwierigkeiten begegnet werden kann und wie vor allem mit relativ geringen Geldmitteln einwandfreie, teilweise durch selbstentwickelte Apparaturen brauchbare Filmstreifen zu erzielen sind. Besonders begrüssenswert ist es, dass der Verfasser in Form von übersichtlichen Tabellen klar vor Augen führt, wie die Zeitraffungs- wie auch die Zeitdehnungstechnik bei biologischen und medizinischen Untersuchungen zur Anwendung zu bringen ist. Er hebt deutlich hervor, dass ein zu stark gerafftes Bild ebenso unnatürliche und nicht mit dem physiologischen Geschehen in Einklang zu bringende Bilder erzeugt wie auf der anderen Seite eine zu starke Verzögerung. Er zeigt, wie Plasmaströmungen und Zellkulturuntersuchungen im Einzelbild sowie am laufenden Film auszuwerten sind und dass mit dieser Methode die Möglichkeit besteht, einen näheren Einblick in den submikroskopischen Bau der lebenden Zellen zu gewinnen.

W. BEJDL

Atlas der normalen Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen

Von E. v. ERRATH und S. ABRAMOW

140 Seiten und 398 meist farbige Abbildungen (Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1950)

Der Versuch, einen vollständigen histologischen Atlas aus farbigen Abbildungen zusammenzustellen, ist sicherlich eine sehr schöne, jedoch eine schwierige Aufgabe; zeigt es sich doch immer wieder, dass es schwer möglich ist, tatsächlich alles zu zeigen, was notwendig ist, um den Anspruch auf Vollständigkeit zu erfüllen. Es ist teilweise schon sehr schwierig, über ein Teilgebiet bildmässig einen Überblick zu schaffen. Die Schwierigkeiten liegen, wie auch die Verfasser ausgeführt haben, hauptsächlich auf finanziellem Gebiete; ausserdem ist aber auch die rein technische Schwierigkeit der Farbaufnahme nicht zu übersehen. Die grösste Zahl der Abbildungen ist in der Farbwiedergabe sowie in der Wahl der Präparate ausgezeichnet. Die einzelnen unscharfen Reproduktionen sind sicherlich der noch unvollkommenen Technik der Farbphotographie zuzuschreiben, die auch wahrscheinlich der Grund ist, dass verschiedene, histologisch sicherlich einwandfreie Organschnitte durch eine etwas abweichende Farbwiedergabe nicht so zur Geltung kommen, wie es wünschenswert wäre.

W. BEJDL

Contribución del coeficiente citológico a la fisiología y patología de la correlación hipofisotiroidea

Por E. DEL CONTE

87 Seiten, 34 Abbildungen und 7 Tabellen (El Ateneo, Buenos Aires 1949)

Die Wirkung des thyreotropen Hormons der Hypophyse auf die Schilddrüsen von Kröten, Hühnern, Meerschweinchen und Ratten wird knapp und klar beschrieben. Besonderen Wert legt der Verfasser auf die intrazellulären Kolloidtropfen, deren Zahl nach Hormongaben zunimmt. Diese Tatsache wird benützt, um die Aktivitätssteigerung der Schilddrüsenepithelien quantitativ festzuhalten. Die Masszahl, die der Verfasser «Coeficiente citológico» (Cc) nennt, berechnet sich aus der totalen Anzahl der intrazellulären Kolloidtropfen einer bestimmten Anzahl Follikel dividiert durch die Summe der mittleren Durchmesser dieser bestimmten Anzahl Follikel. Die Methode gestattet den Nachweis von weniger als 0,0002 Junkmann-Schöller-Einheiten thyreotropen Hormons.

Für die auf thyreotropes Hormon sehr sensible Meerschweinchenschilddrüse berechnet der Verfasser für verschiedene Dosen thyreotropen Hormons von bekanntem Gehalt an Junkmann-Schöller-Einheiten die Masszahl Cc. Damit lässt sich eine Eichkurve aufstellen, die gestattet, den Gehalt verschiedener organischer Flüssigkeiten an thyreotropem Hormon zu bestimmen und in Junkmann-Schöller-Einheiten umzurechnen. DEL CONTE untersuchte mit seiner Methode den Hormongehalt von menschlichem Blut, und zwar von Hypo-, Eu- und Hyperthyreotikern. Seine Resultate verdienen Beachtung und dürften zu interessanten Überlegungen Anlass geben.

Das kleine Werk darf allen denjenigen, die sich mit Fragen der Schilddrüsenfunktion beschäftigen, gelegentlich empfohlen werden.

K. S. LUDWIG

L'energia atomica

Introduzione all'impiego degli isotopi e sue applicazioni biologiche in biologia e medicina

Di B. BELLION e F. DE MICHELIS

572 pagine con 42 tabelle, 117 illustrazioni
e una tabella Addison-Wesley di dati nucleari
(Casa editrice Rosenberg & Sellier, Torino)
(Lire 7000 o \$11)

Obwohl die Methode der radioaktiven Isotopen für die biologischen, medizinischen, chemischen und andern Messungen schon vor dem Krieg Anwendung gefunden hat, wurde ihre heutige rasche Entwicklung nur dank der grossen Nachkriegsfortschritte der experimentellen Kernphysik ermöglicht. Die neue Technik hat besonders in den U.S.A., welche heute noch das wichtigste Zentrum der kernphysikalischen Forschungen sind, eine grosse akademische und industrielle Entwicklung erlebt und – wie zu erwarten war – zu einer grossen Anzahl von Publikationen Anlass gegeben.

Seit einiger Zeit wird dieses interessante Gebiet auch in Europa bearbeitet. Nach den Publikationen aus den skandinavischen Ländern, aus England und Frankreich wird dieses von B. BELLION und F. DE MICHELIS in Italien herausgegebene Buch sicher ebenfalls grosses Interesse finden, besonders bei Lesern, die mit den kernphysikalischen Methoden nicht vertraut sind.

Das Buch ist in zwei Teile geteilt. Der erste Teil ist eine Einführung in die Kernphysik und gilt als Einleitung in die Methode der Indikatoren (stabilen und radioaktiven) in Biologie und Medizin, die im zweiten Teil des Buches ausführlich behandelt wird. Jedem Kapitel ist ein reichhaltiges und bis auf den heutigen Stand nachgeführtes Literaturverzeichnis beigelegt.

Das Buch ist im allgemeinen sehr gut und seriös geschrieben und stützt sich auf Kenntnisse, die aus vielen internationalen Monographien und Artikeln gewonnen wurden. Es wäre vielleicht zu bemerken, dass in einigen Kapiteln wichtige Ausführungen über die Messungen mit radioaktiven Isotopen etwas zu allgemein gehalten sind, wenn man den Zweck und den Umfang des Buches in Betracht zieht. Wieder andere Spezialgebiete der experimentellen Kernphysik hingegen sind eher etwas weitläufig behandelt. So ist zum Beispiel ausführlich von der bei den Indikatorenversuchen praktisch nicht gebrauchten Wilsonkammer geschrieben, und es finden sich dagegen nur ganz kurze Hinweise über Apparate für Verstärkung und Untersetzung (scaling) der Impulse im Geiger-Müller-Zählrohr. Ebenso sind vielleicht auch die so wichtigen «absoluten Messungen» von β - und β - γ -Strahlen etwas zu wenig erwähnt. Dies sind natürlich nur Einzelheiten, die den eigentlichen Wert des Buches, welches sicher in der internationalen Literatur eine gute Stellung finden wird, nicht schmälern.

G. G. PORETTI

Taschenatlas der Schweizer Flora

Mit Berücksichtigung der ausländischen Nachbarschaft
Zweite, vermehrte Auflage

Von EDUARD THOMMEN

309 Seiten; über 3050 Schwarzweissfiguren mit Angabe der Blütenfarbe (Verlag Birkhäuser AG., Basel 1951)
(geb. Fr. 13.50)

Unbestreitbar kommt dem Werk THOMMENS das Verdienst zu, das Interesse an der Pflanzenwelt der Schweiz zu wecken und zu fördern. Die literarische Produktion, die sich mit der Gesamtheit der Schweizer Flora befasst, ist im Vergleich mit derjenigen anderer Länder eher als dürftig zu bezeichnen; sie entstand ganz privat und wurde vor allem nicht gefördert durch die einflussreichen massgeblichen staatlichen Stellen. Dass das Interesse für Florenwerke vorhanden ist, zeigt das rasche Nötigwerden einer zweiten Auflage des «Taschenatlas». Und das Werk THOMMENS verdient dieses Interesse. Es ist eine Zierde wissenschaftlicher Bibliotheken des In- und Auslandes geworden, und es beeindruckt den Benützer durch die geniale Ausgefeiltheit der zeichnerischen Darstellung. Das Zeichnen von 3050 Pflanzenbildern, ohne einem seelenlosen Schematismus zu verfallen, das ist THOMMEN gelungen. Darum begeistert es, seiner spitzen Feder in alle sicher gewählten Details nachzuspüren und sich dem Eindruck hinzugeben, den die treffend gelungene zeichnerische Herausarbeitung der arteigenen Physiognomie einer jeden Pflanze vermittelt.

Die Flora eines Landes ist keine statische Angelegenheit. Sie ist wie alles Lebendige dem Wechsel unterworfen. Es ist ein ständiges Kommen und Gehen; heute leider nur allzuoft ein Vergehen. Auf 20 Seiten «Anmerkungen zum Bilderteil» wird diese Dynamik deutlich: Durch kurze, präzise Angaben über Auftreten und Verbreitung seltener Arten werden dem Benützer des Buches diese Probleme angedeutet und diese ihn zu eigener Forschertätigkeit anregen. Dass in diesen Angaben das neueste Wissen verwertet wird, gibt dem Werk den Stempel absoluter Zuverlässigkeit. – Es gilt als wertvolle Bereicherung des Werkes, dass auch Zierpflanzen und eingeschleppte Fremdlinge Eingang gefunden haben und dass die Flora weiter Gebiete des angrenzenden Auslandes einbezogen wird.

Wir sind überzeugt, dass der «Taschenatlas» in der durch einige Dutzend Zeichnungen erweiterten 2. Auflage aufs neue seine Nützlichkeit beweisen und als selbstständiger Wegweiser oder in Verbindung mit den vorhandenen Bestimmungsbüchern, denen es auf knappstem Raum die bildhafte Vergleichsmöglichkeit geben will, jedem Pflanzenfreund eine zuverlässige Hilfe sein wird.

P. AELLEN

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

DE PRINCIPIIS

Das Artproblem in naturphilosophischer Beleuchtung

VON HEDWIG CONRAD-MARTIUS¹, München

Aus DARWIN'S Ausführungen in seiner *Entstehung der Arten* geht hervor, dass es bis zu seinen Tagen eine schulmässige (akademische) Gepflogenheit gewesen sein muss, das Wesen der Art (Spezies) durch die Bezugnahme auf einen jedesmaligen besonderen Schöpfungsakt der einzelnen Art zu kennzeichnen. Und zwar erscheint das schon als Folge einer wissenschaftstheoretischen Situation, in der es nicht mehr möglich erschien, eine eindeutige Definition dessen zu geben, was Art an sich selber ist. «Nicht eine einzige Definition», sagt DARWIN, «konnte alle Naturforscher befriedigen, jedoch weiss jeder von ihnen im allgemeinen, was der Ausdruck sagen will. Gewöhnlich umfasst diese Bezeichnung ein unbekanntes Element eines besonderen Schöpfungsaktes.» Und: «Die Bezeichnung der Art wird dadurch (durch die vielen gefundenen Zwischenformen) zu einer ganz unnützen Abstraktion, die einen besonderen Schöpfungsakt in sich fasst und annimmt.» DARWIN hatte natürlich völlig recht, wenn er die Bezugnahme auf einen Schöpfungsakt als nicht zulässig für die Definition der Art als solcher ansah. Darüber hinaus aber schien sich immer mehr herauszustellen, dass überhaupt eine eindeutige Sonderung in eine verhältnismässig begrenzte Anzahl von naturhaft gegebenen und merkmalsmässig reinlich für sich abgesonderten Arttypen, die infolgedessen auch in schöpfungsmässiger Isoliertheit begriffen werden könnten, nicht möglich ist.

Diese Verlegenheitssituation trat im Grunde fast gleichzeitig mit den ersten Anfängen exakt empirischer Forschung auf diesem Gebiete auf. Sie tauchte mit dem Versuch auf, das anwachsende empirische Material mit den Schulregeln der traditionellen aristotelischen Logik vom *Genus proximum* und der *Differentia specifica* kategorial zu bewältigen. Schon der englische Zoologe und Botaniker JOHN RAY (1628–1705) hatte darauf aufmerksam gemacht, dass die übliche schulmässige Methode der begrifflichen Fassung einer Spezies durch die *Differentia specifica* bei den konkreten Naturarten nicht ausreichend sei². Die wirklich in der Natur vorfindbaren Arteinheiten müssten nach RAY durch Angabe eines Merkmalskomplexes charakterisiert werden, durch dessen Aufstellung sich die Artbestimmung dem gegebenen konstitutionellen Gesamthabitus der betreffenden Pflanzenart möglichst genau anschmiege. Dadurch war schon damals das später von KANT dem «Schulsystem» gegenübergestellte und geforderte «Natursystem» theoretisch vorentworfen. Aber gerade diese Bemühungen, den (statischen) Artbegriff in möglichster Anlehnung an die Naturgegebenheiten zu verwerten und dadurch die lebendige Natur kategorial-systematisch zu bewältigen, erwiesen sich als immer schwieriger.

LINNÉ verwandelte bekanntlich als erster das durch weltweite Sammlungen entstandene Chaos botanischer und zoologischer Phänomene mit Hilfe der binären

Nomenklatur in einen begrifflich übersichtlichen Kosmos. In den ersten Auflagen seines «*Systema naturae*» (1735) legte er dieser Ordnung den viel zitierten Satz zugrunde: «Wir zählen so viele Arten, als verschiedene Formen am Anfange geschaffen worden sind.» Aber gegenüber einer Menge von ihm selber sofort erkannt und zunächst nur als «Abarten» bezeichneter Formen, das heisst Formen, die sich wegen irgendwelcher Merkmalsabweichungen in das reine typische Artbild nicht einordnen liessen, wurde ihm die Klarheit seines Systems von vorneherein erheblich getrübt. «Eine Ecke des riesigen Gebäudes, das LINNEUS mit dem *Systema naturae* errichtete, war bereits gleich nach seiner Vollendung von einem von aussen eindringenden ätzenden Stoff angefressen¹.» Die «unnatürlichen Formen» brachten schon LINNÉ selber schliesslich zu einer völligen Preisgabe seines ursprünglichen Artbegriffs. Später schrieb er von einem gegebenenfalls notwendig werdenden «wunderbaren Schluss», dass es geschehen könne, dass neue Arten innerhalb der Pflanzenwelt entstehen. Er spricht von den *Species Animalium et Plantarum*, ja sogar den Genera, als «Werken der Zeit». Nur die *Ordines naturales* bleiben am Ende als Werke des Schöpfers übrig. Von Evolution im heutigen deszendenztheoretischen Sinne war natürlich bei LINNÉ noch keine Rede. Im Laufe der Zeit neuentstehende und neuentstandene Arten dachte er sich als Zwittererzeugungen verschiedener Arten, sogar verschiedener Genera (*Generatio hybrida*). Differenzierung durch Artenmischung ist aber keine Evolution, sagt HAGBERG. LINNÉ sei es niemals gelungen, den neuen Artbegriff genau festzulegen. «In dem *Systema naturae* von 1735 war die Welt fest und hell. In dem *Systema naturae* von 1766 waren die Grundfesten erschüttert. Mit dem aufgelösten Artbegriff brütete von neuem die Nacht über undurchdringlicher Tiefe.» Wir werden jedoch sehen, dass die schon bei LINNÉ und schon vor ihm ausgebrochene Krankheit (der dynamischen Auflösung des Artbegriffs) heute anfängt, selber zum Heilmittel zu werden.

Merkwürdigerweise verwirklichte sich der eigentliche Prozess der Zerstörung des Artbegriffs dennoch erst von der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts ab, mit der durch den Darwinismus endgültig festgelegten Entwicklungslehre. Bis dahin hatte sich durch die idealistisch-morphologische Natursicht, die während der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts mit immer neuen Konzeptionen neben der experimentierenden Gesetzeswissenschaft einherlief, immer noch ein Durchblick für die konstanten Wesensgrundlagen dessen erhalten, was nicht nur dem Artbegriff, sondern auch der höheren systematischen Ordnung des lebendigen Naturbereichs realiter zugrunde liegen mag. Wenn sich DARWIN selber und die gesamte auf ihn folgende darwinistisch orientierte Diskussion immer wieder polemisch gegen die These einer besonderen Erschaffung der einzelnen Arten wendete, so sollte damit eigentlich das Festhalten an einem solchen, die natürliche Art objektiv und realiter begründenden Wesensbestande getroffen werden. DARWIN konnte sich nur infolge der nominalistisch entleerten Denkart seiner Zeit hiervon überhaupt keinen Begriff mehr machen. Auch in den von den Darwinisten bekämpften idealistischen Schulen selber waren solche festgehaltenen metaphysischen Bezüge nurmehr noch

¹ Lehrbeauftragte an der Universität München.

² Vgl. ERICH VOGELIN, *Die Rassenidee in der Geistesgeschichte* (Junker & Dünhaupt, Berlin 1933).

¹ KNUT HAGBERG, *Carl Linneus* (Goverts & Claahsen, Hamburg 1946).

in einem relativ oberflächlichen, formalisierten Sinn erhalten.

Die Verwirrung besass jedoch, wie schon angedeutet, einen durchaus sachlichen Grund. Das eigentlich Katastrophale in den Bemühungen, einen eindeutig definierten Artbegriff zu finden, lag darin, dass es sich als immer unmöglicher zu erweisen schien, eine gültige Grenzlinie zwischen der Spezies und allen subspezifischen Formtypen zu ziehen. DARWIN nannte es einen Schlag aufs Wasser, die Frage zu erörtern, was Art und was Varietät sei, solange nämlich «eine Definition dieser Bezeichnung nicht allgemein angenommen ist». Sachlich genommen handelt es sich um folgende Frage: sind zwei in irgendeinem Merkmalssinne differente Typen (innerhalb des Gattungsrahmens), die man vor sich hat, bloss subspezifische Unterformen eines sie übergreifenden Arttypus, oder stellen sie selber zwei verschiedene Arttypen dar? Die beiden Kennzeichen, an denen man sich für diese Unterscheidung mit einem gewissen Recht immer wieder orientieren wollte, waren: 1. die gegenseitige Unfruchtbarkeit (wenn nicht Unmöglichkeit einer Kreuzung) zweier verschiedener Artformen im Unterschied zur gegenseitigen unbegrenzten Fruchtbarkeit zweier bloss subspezifischer Formen; 2. ein gewisser Merkmalsabstand, der zwei verschiedene «gute» Arten zu je voneinander charakteristisch abgeschlossenen Typen machen sollte, während subspezifische Formen durch merkmalsmässige Nähe kontinuierlich ineinander zu überführen seien. Es zeigte sich aber, dass in zahllosen Fällen zwei pflanzliche und tierische Typen, die wegen ihrer gegenseitigen Unfruchtbarkeit und eines durchaus gesamttypischen Merkmalsabstandes für gute und echte Sonderarten gehalten worden waren, durch später aufgefundene Zwischen- und Übergangsformen verbunden werden konnten. Eine gleitende Merkmalskala führt über diese Zwischenformen hinüber von der einen sogenannten guten Art zur andern. Ausserdem sind die Zwischenformen untereinander fruchtbar, verbastardieren infolgedessen an den gemeinsamen Grenzen ihrer im übrigen getrennten Wohnbezirke. Sind nun die beiden ursprünglichen, einander merkmalsmässig fernstehenden und gegeneinander infertilen Endglieder einer solchen Reihe nach wie vor als verschiedene «Spezies» zu bezeichnen, während alle typischen Zwischenglieder als bloss subspezifische Formen (Rassen) zu bewerten sind? Das letztere ist nicht nur durch deren gegenseitige unbegrenzte Fruchtbarkeit (die nur durch zeitlich-paläontologische, geographische oder ökologische Isolierung, abgesehen von den gemeinsamen Wohngrenzen, faktisch nicht in Erscheinung tritt) einigermaßen gewährleistet, sondern vor allem dadurch, dass sie Gliedsegmente eines empirisch verfolgbaren kontinuierlichen Formenkreises auf der Artebene¹ vorstellen. Hierüber wird im folgenden mehr zu sagen sein. Was jenes zweite traditionelle Unterscheidungsmerkmal zwischen Spezies und Subspezies betrifft, nämlich das der gegenseitigen Fruchtbarkeit bzw. Unfruchtbarkeit, so hat es sich, genau so wie der typische Merkmalsabstand, als ein nicht völlig eindeutiges herausgestellt. Nicht nur können Arten, manchmal auch Gattungen künstlich zur Kreuzung gebracht werden, sondern es kommen Verbastardierungen von Arten und Gattungen in der Natur vor. Die bekanntesten Beispiele sind Pferd und Esel, Wolf und Hund, Stieglitz und Kanarienvogel u. a., abgesehen von den vielen botani-

schen Fällen. Solche artlichen Verbastardierungen können gegebenenfalls auch in den folgenden Generationen fruchtbar sein. Ebenso und umgekehrt kommt gegenseitige unbegrenzte Fertilität den subspezifischen Formen keineswegs immer und überall zu, wenn es auch das sozusagen Naturgemässe bei ihnen darstellt. Auch Rassen der gleichen Art können untereinander unfruchtbar sein. Wir erwähnten soeben den Fall der geographischen Rassenbildung¹, bei der irgendein Arttypus eine geographische Rasse nach der andern aus sich entlässt, manchmal über ganze Kontinente hinüber. Die rassischen Typen lassen sich nicht nur morphologisch, sondern auch in zeiträumlicher Evolution aneinanderreihen und können schliesslich in einer Form enden, die von der Ausgangsform nach ihrer phylogenetischen Entstehung sowohl wie lebensmässig so weit entfernt ist, dass sie sich in naturhafter Gegebenheit nicht mehr mit ihr paart. Einen besonders überzeugenden Fall zeigen nach MERXMÜLLER² gewisse Möwen aus der Gattung *Larus*, bei denen die Rassen «in schöner geographischer Aneinanderreihung und Ausschliessung den Norden von Europa, Amerika und Asien umgreifen und, nunmehr zu wohlgeschiedenen Arten geworden, hier nicht mehr geographisch, sondern physiologisch isoliert, gemeinsame Areale besiedeln». Es kann sogar zu einer morphologischen Kreuzungsunmöglichkeit kommen durch Herausbildung von Geschlechtsorganen, die zu denen des Ausgangstypus nicht mehr passen.

Wenn wir hiermit die infertil gewordenen Endglieder eines Rassenkreises selber als Rassen bezeichnen, um damit ein Beispiel für die faktische Möglichkeit einer Unfruchtbarkeit auch subspezifischer Formen untereinander zu geben, so schliesst das allerdings schon eine Auffassung vom Wesen der Subspezies gegenüber dem der Spezies ein, die nicht unbestritten ist. Es ist sehr merkwürdig, dass an genau der Stelle, an der sich besonders deutlich zeigt, dass auch die Interfertilität bzw. Infertilität kein eindeutiges Unterscheidungsmerkmal zwischen Art und Unterart ist (was doch eigentlich der Intention aller derjenigen entgegenkäme, die eine sachlich begründbare definitiorische Unterscheidung zwischen Spezies und Subspezies für unmöglich halten), doch wieder nach der traditionellen Bestimmungsweise des (statischen) Artbegriffs geurteilt wird. Es pflegt nämlich dieser Fall als ein geradezu klassisches Beispiel für eine mit Händen zu greifende «Artwerdung» angesehen zu werden. Aus immer differenter werdenden Rassen soll sich hier eine gegenüber dem Ausgangstypus «neue Art» herausgebildet haben. Diese deszendenztheoretische Konzeption einer Artwerdung durch nur weit genug getriebene Rassendifferenzierung gründet sich deutlich auf die beiden alten Bestimmungen dessen, was Art gegenüber Unterart sein soll: die Infertilität und die gesamttypische Merkmalsabsonderung. So bestimmt etwa auch DOBZHANSKY noch den Artbegriff: Art sei dasjenige Stadium des Evolutionsvorgangs, «in dem zwei oder

¹ Die fruchtbare Konzeption des Rassen- oder Formenkreises hat nach meiner Kenntnis zuerst KLEINSCHMIDT und wohl von demselben unabhängig etwas später B. RENSCH aufgestellt. KLEINSCHMIDT hat die grosse Bedeutung des Rassenkreises für die Bestimmung dessen, was Art ist, weitgehend erkannt und schon einen durchaus richtigen dynamischen Artbegriff an die Stelle des statischen gesetzt. O. KLEINSCHMIDT: *Die Formenkreislehre und das Weltwerden des Lebens* (Halle 1926); B. RENSCH, *Das Prinzip geographischer Rassenkreise und das Problem der Artbildung* (Berlin 1929); *Neuere Probleme der Abstammungslehre* (Ferdinand Enke, Stuttgart 1947).

² H. MERXMÜLLER, *Fragen des Artbegriffs in der Botanik*, Natwiss. Rdsch. 2 (1949). Auf diesen bemerkenswerten Artikel werde ich mich im folgenden eingehend beziehen.

¹ Die «Artebene» lässt sich von der Gattungsebene kategorial eindeutig abheben. Dazu bedürfte es einer besonderen Darstellung. Vgl. H. CONRAD-MARTIUS, *Die Abstammungslehre* (Kösel, München 1949). Zur Artebene jedoch gehört die Spezies und gehören alle subspezifischen Formen, wie wir in folgendem noch sehen werden.

mehr gesonderte Gruppen aufgeteilt werden, die sich aus physiologischen Gründen nicht mehr fortpflanzen können»¹. Gegen diese Auffassung der Artentstehung ist, abgesehen von dem deszendenztheoretisch grundsätzlich Problematischen, das hier besteht², von vorneherein ein spezieller kategorialer Einwand zu machen. An und für sich stellen nämlich solche subspezifischen Formenreihen die phylogenetischen Evolutionsergebnisse einer bestimmten Spezies dar, wie auch in der ganzen entsprechenden biologischen Literatur vermerkt wird. Mit der zeitlich-räumlichen Weiterverbreitung einer typischen Art in immer neue, je andersartig bestimmte Wohnareale und einer Lebensisolierung in denselben bilden sich entsprechend immer neue Untertypen dieser Art heraus, die wegen ihrer erblichen Konstanz als echte Subspezies bzw. Rassen angesehen werden müssen. Zunächst *brauchte* die Spezies nur in einem einzigen subspezifischen Typus auftreten, den sie dann mit sich selber zugleich repräsentiert. Hier entwickeln sich also die Unterarten «aus» der Art. Das ist eine naturgemässe, selbstverständliche Phylogenie. Dann sollte aber plötzlich umgekehrt mit irgendwelchen Endgliedern einer solchen echten Evolution eine neue Art entstanden sein? Haben wir hier nicht einen, zwar nicht logischen, aber doch sachlichen *Circulus vitiosus* vor uns, der einer naturwissenschaftlich formalisierten Denkweise entspringt und ausserdem unter dem Bann einer selbst äusserlich formalisierten Deszendenztheorie steht? Als ob durch eine rein summative Zunahme von Differenzierungen je aus einem niederern Typus ein höherer entstehen könnte.

Der einzige sachliche Grund, weshalb solche Endglieder eines Rassenkreises zu neu entstandenen «Arten» abgestempelt werden sollen, wäre ihre eingetretene Infertilität gegenüber anderen Gliedern desselben Formenkreises. Wir sahen aber, dass dieses Merkmal ohnehin kein eindeutiges *Specificum differens* zwischen Spezies und Subspezies ist. Die Endglieder eines artlichen Formenkreises besitzen jedoch ein Charakteristikum, durch das sich, wie schon angedeutet, ihre nichtartliche Natur letztlich ausschlaggebend zu erkennen gibt. Während sie nämlich ihrerseits letzte Gliedsegmente eines bis auf sie hin empirisch verfolgbaren Formkreises darstellen, haben sie selber keine Möglichkeit weiterer subspezifischer Differenzierung und Aufspaltung mehr. Mit ihnen hat sich der betreffende (artliche) Formkreis, zu dem sie als Segmente gehören, phylogenetisch erschöpft. STEBBIN³ teilt diejenigen «Arten», bei denen sich kein zu ihnen gehöriger subspezifischer Formkreis finden lässt, die also vollkommene morphologische und genetische Homogenität aller ihrer Glieder zeigen, in «Isolierungstypen» und «Erschöpfungstypen». Im ersteren Fall hat die betreffende Spezies «noch» keine neuen Biotypen (erbbeständige Varianten, Rassen, Unterformen) gebildet, weil sie sich in einem isolierten Lebensraum befindet; im zweiten Fall ist sie dazu nicht mehr imstande. Der erste Fall ist klar. Die Spezies, die bisher nur einen einzigen, mit ihr selbst gegebenen subspezifischen (rassischen) Untertypus besitzt, schliesst noch alle realen Möglichkeiten für eine weitere subspezifische Aufspaltung in sich, die in anderen Verbreitungsarealen gegebenenfalls verwirklicht würden. Der zweite Fall ist der bisher betrachtete. In dem Endglied eines artlichen Formkreises hat die phylogenetische Fruchtbarkeit der betreffenden Art ihr Ende gefunden. Sie hat sich phylo-

genetisch erschöpft. Es ist absurd, in einem solchen evolutionär erschöpften Endglied eines genealogischen Artotums eine neuentstandene «Art» sehen zu wollen. Wir können direkt präzisieren: Was eine Art zur Art macht, ist ihre phylogenetische Fruchtbarkeit, das heisst ihre Fähigkeit, sich in subspezifischen Formen aufzuspalten und in ihnen darzustellen. Ja wir können noch einen Schritt weitergehen. Eine Art *qua* Art kann sich überhaupt nicht als solche und als ganze direkt und unmittelbar *in concreto* darstellen, sondern immer nur vermittelt eines ihrer subspezifischen (rassischen oder wie immer kategorial zu bestimmenden) Teiltypen.

Hier zeigt sich nunmehr klar, woraus die Verwirrung bei den Versuchen, Spezies und Subspezies eindeutig zu unterscheiden, resultierte. Es ist grundsätzlich nicht möglich, gegenüber isolierten Formtypen, die zu einer gemeinsamen Gattung gehören und unfruchtbar gegeneinander sind, direkt zu entscheiden, ob man mit ihnen zwei subspezifische Glieder einer einzigen Arttotalität vor sich hat, oder ob es sich um zwei Vertreter wirklich differenter Arten handelt. Keine morphologische Analyse kann allein und endgültig darüber entscheiden. Das besagt aber keineswegs, dass es einen solchen Unterschied objektiv und realiter nicht gibt. Die beiden vorliegenden Typen *sind* entweder subspezifische Glieder einer Art, die sie gemeinsam umschliesst, oder aber Vertreter zweier verschiedener Arten. Das stellt sich in dem Augenblick heraus, in dem auf Grund empirischer Nachforschung festgestellt ist, in was für einem Evolutionszusammenhang die beiden Formen stehen und *ob* überhaupt in einem. An und für sich ist es zum Beispiel gut möglich, dass sich zwei miteinander infertile Typen, die sich bis auf geringfügige Merkmalunterschiede morphologisch gleich sind (verschiedene echte Arten sind sich oft ähnlicher als verschiedene Rassen!), beiderseitig durch geographische Formenkreise ausgezeichnet erweisen, die gegebenenfalls durch ganze Kontinente hindurch unvermischt parallel laufen. In diesem Fall ist es natürlich ausgeschlossen, dass die morphologisch so ähnlichen Formen nur infertil gewordene Rassenglieder einer einzigen Art sind, für die man sie bei unmittelbarer morphologischer, eventuell auch genetischer Analyse zunächst halten könnte. Ebenso aber ist es umgekehrt möglich, wie wir sahen, dass zwei miteinander infertile Typen, die sich innerhalb des Gattungsrahmens morphologisch oder auch genetisch weitgehend unähnlich sind, doch nur Gliedsegmente eines gemeinsamen artlichen Formkreises vorstellen. Die Feststellung eines gemeinsamen phylogenetischen Zusammenhanges in einem einzigen artlichen Formkreis würde das erweisen. Keineswegs ist man hier zu der unnatürlichen Annahme genötigt, dass solche Rassen am Ende in Arten übergegangen sind. So bemerkt auch MERXMÜLLER: «Es scheint hier wirklich die ungezwungener Lösung zu sein, den ganzen Formkreis als eine biologische Einheit, eben als besonderen Arttyp zu behandeln... mit verschiedenen subspezifischen Segmenten.» Ungezwungener als die Annahme, dass es sich dabei um den von DOBZHANSKY (wie anderen, zum Beispiel auch RENSCH) vorausgesetzten Augenblick einer Artwerdung handle, mag das auch, wie MERXMÜLLER andererseits hinzufügt, ein Fall sein, in dem eine solche Artwerdung am schönsten hervorträte. Exakt ontologisch und kategorial gesehen handelt es sich hier nicht um zwei gleichwertige, wenn auch mehr oder weniger «gezwungene» bzw. «ungezwungene» Lösungsmöglichkeiten, sondern um eine künstlich definitorische einerseits, die aus der über dem Artbegriff liegenden Verwirrung nicht herausführt, und sachgerechte andererseits, bei der Unterschied und Zusammenhang zwischen Spezies und Subspezies eindeutig gekennzeichnet

¹ Nach H. MERXMÜLLER, Naturwiss. Rdsch. 2 (1949).

² Vgl. H. CONRAD-MARTIUS, *Die Abstammungslehre* (Verlag Kösel, München 1949) sowie *Das Lebendige, Die Endlichkeit der Welt, Der Mensch* (Verlag Kösel, München 1951), dritter Disput.

³ Nach H. MERXMÜLLER, Naturwiss. Rdsch. 2 (1949).

net sind. Die Krankheit wird zum Heilmittel. Das subspezifische Evolutionsganze, in das sich die Art heillos, weil ununterscheidbar, auflösen schien, ist eben das artliche Totum. «Art» ist nichts anderes als das jeweilige Ganze eines solchen phylogenetisch zusammenhängenden Formkreises. Die dazugehörigen subspezifischen Formen sind die Gliedsegmente des gleichen phylogenetischen Totums; in ihm stellt sich die betreffende «Art» je und je von einer etwas anders typisch differenzierten Seite dar.

Es ist von grösstem Interesse, dass neuerdings zwei amerikanische Forscher (vom New Yorker Botanischen Garten), CAMP und GILLY, dazu übergegangen sind, auf Grund eines entsprechenden empirischen Materials an die Stelle des bisherigen statischen Artbegriffs einen dynamischen in einem zu dem Ausgeführten durchaus analogen Sinne zu setzen. Über ihre Veröffentlichung¹ berichtet MERXMÜLLER in dem angeführten Aufsatz. Er hebt dabei selber mit Nachdruck die Bedeutung hervor, die eine solche Konzeption des Artbegriffs für die positive Lösung der säkularen Frage nach der natürlichen, realen Grundlage einer sich auf die Spezies und die Subspezies beziehenden botanischen und zoologischen Systematik besitzt.

CAMP und GILLY sind dazu übergegangen, verschiedene Typen von Artbildung und damit verschiedene Typen von «Art» (*qua* Art) zu unterscheiden. Es hat sich nämlich auf Grund genetischer und zytologischer (neben morphologischen, variationsstatistischen und arealkundlichen) Untersuchungen herausgestellt, dass die einzelnen «Spezies», so wie sie in der Natur auftreten, auf sehr verschiedenem Wege entstehen. «Zu welchem Speziestyp eine Art zu rechnen ist, hängt einerseits von dem genetischen System ab, das in der betreffenden Gruppe wirksam ist, andererseits von dem Stadium der Evolution, in dem sie sich befindet» (MERXMÜLLER). Sieht man sich die Charakterisierung der Arttypen, über die MERXMÜLLER nach CAMP und GILLY berichtet, genauer an, so haben sie das Gemeinsame, dass stets irgendein – bei den verschiedenen Arttypen durch verschiedene Ursachen hervorgerufen – phylogenetischer Evolutionszusammenhang, in dem eine Reihe naturgegebener Formen stehen, als ein komplexer Biotyp aufgefasst werden kann, der eben die Spezies darstellt. Auch innerhalb eines und desselben komplexen Arttyps kann der Fortgang der umgestaltenden Evolution auf verschiedenen Ursachen beruhen. So ist es zum Beispiel das Charakteristische des sogenannten *Parageneons*, dass es «entweder durch teilweise Vermischung mit einer anderen Spezies oder durch Mutation (ohne Errichtung von Sterilitätsschranken) oder durch Isolierung aus einer noch komplexeren Population» entstanden ist. Die Grundformen, die in diesen komplexen Biotypen eingehen, sind untereinander fertil, wodurch ihre subspezifische Natur wahrscheinlich gemacht ist. Wenn es bei MERXMÜLLER heisst: «durch Vermischung mit einer anderen ‚Spezies‘», so scheint diese Benennung hier, wie übrigens an vielen anderen Stellen auch, durch ungernehtfertige, weil ja gerade in der Gesamtkonzeption aufgegebenen Benutzung des traditionellen (statischen) Artbegriffs zustande zu kommen. Unter dieser begrifflichen Doppeldeutigkeit des Ausdrucks «Spezies» leidet die Klarheit der Darstellung erheblich. Wir müssen demgegenüber festhalten: was sich als Gliedsegment eines phylogenetisch komplexen artlichen Biotyps herausstellt, hat sich damit als Subspezifikum erwiesen. Das ist

das eigentliche Ergebnis der ganzen Klärung. – Das sogenannte *Micton*, «eine Art von oft weiter Verbreitung», entsteht «durch Bastardierung zwischen Individuen zweier oder mehrerer Spezies», die in Genaustausch getreten sind. Was den Ausdruck «Spezies» betrifft, so ist auch hier wieder das gleiche zu sagen. MERXMÜLLER bemerkt wiederum ausdrücklich, dass alle diese sogenannten «Arten» miteinander fertil sind. Das im besonderen Charakteristische besteht im Fall des *Mictions*, wie übrigens teilweise auch in dem des *Parageneons*, darin, dass das komplexe Arttotum nicht wie beim geographischen Rassenkreis eine (analytische) Aufgliederung in subspezifische Formen umfasst, sondern eine (synthetische) Zusammengliederung solcher. MERXMÜLLER führt unter anderm folgendes Beispiel an: Eine weitverbreitete nordostamerikanische Hochstrauchheidelbeere habe sich dadurch gebildet, dass drei «gut getrennte Arten», die im ausgehenden Tertiär grosse Areale der amerikanischen Südstaaten bewohnten, durch die Eiszeit im Nordteil ihres Areals am Eisrand zusammengeführt seien und hier in Genaustausch traten. Während die im Südteil zurückgebliebenen «Elternarten» in immer grössere geographische Isolation gerieten und dadurch ihren Genbestand sowie ihre Gestaltung bis heute bewahren konnten, sei die neuentstandene Form besonders geeignet gewesen, dem zurückweichenden Eise zu folgen und besiedelt bis heute einen grossen Teil des nach der Eiszeit hier neuentstandenen Landes. Auf ähnliche Weise soll vermutlich in Zentraleuropa unsere deutsche Buche zustande gekommen sein. Auch hier scheint es mir von ausschlaggebender Wichtigkeit für die kategoriale Klärung zu sein, dass weder die Hochstrauchheidelbeere noch gegebenenfalls die deutsche Buche selber «die» Art (*das* *Micton*) vorstellen, sondern dass als Art nur die komplexe phylogenetisch evolutionäre Totalität *aller* Gliedsegmente, der Ausgangstypen sowohl wie des resultierenden Typus, bezeichnet werden kann. Das synthetisch entstandene Endglied (die Hochstrauchheidelbeere) ist hier ebensowenig eine neuentstandene «Art» wie das Endglied eines geographischen Rassenkreises, sondern sie ist eines der, wenn auch synthetisch, neuentstandenen Gliedsegmente des artlichen Totums, in dem die Art genau ebenso zu einer subspezifisch charakterisierten Teilerscheinung kommt wie in den zugrunde liegenden Ausgangsgliedern. Die begriffliche Verwirrung wird nicht behoben, wenn bald, wie im Fall des *Mictions*, das Endglied des phylogenetischen Totums als «die» Art bezeichnet wird, bald aber, wie MERXMÜLLER selbst im Fall des Rassenkreises als ungezwungenere Lösung mit den amerikanischen Forschern vorschlägt, der ganze Formkreis als besonderer Arttypus behandelt wird. Auch von «*Micton*» sollte nur in bezug auf die biologische Einheit des ganzen Formkreises gesprochen werden. – Ein weiterer Arttypus ist der erwähnte, in der Gegenwart in Tausenden von Fällen (B. RENSCH, 1947) vorhandene Rassenkreis, das von CAMP und GILLY, sogenannte *Rheogamenon*. – Beim *Phenon* sind durch verschieden verursachte genomatische Differenzierungen (genetische oder chromosomale) die Gliedsegmente des Arttotums gegenseitig steril. MERXMÜLLER erwähnt, dass neuere Forscher, besonders Genetiker, dazu neigen, diese gegeneinander infertil gewordenen Formen als «eigene gute Arten» zu bezeichnen, zumal sie häufig auch physiologische und geographische Differenzierungen besitzen. Mit grösstem sachlichem Recht dürfte der Autor der Ansicht von CAMP und GILLY beipflichten, dass auch diese Segmente als subspezifische Kategorien einem besonderen Speziestyp unterzuordnen sind. – Ein weiterer Typus ist das erwähnte *Homogeneon*, das als Inseltypus einerseits, als Erschöpfungstypus andererseits morpho-

¹ W. H. CAMP und C. L. GILLY, *The Structure and Origin of Species*, Brittonia, Vol. 4 (The New York Bot. Garden 1943). Zitiert nach H. MERXMÜLLER, Naturwiss. Rdsch. 2 (1949).

logische und genetische Homogenität aller seiner Glieder besitzt. Auch hier ist der betreffende Einzeltypus (das Linneont) nicht «die» Art; sondern in den einzelnen Linneonten stellt sich nur die entweder schon phylogenetisch erschöpfte oder wegen Isolierung noch nicht zur phylogenetischen Differenzierung gelangte Art als in einer einzigen, ihr zur Zeit allein möglichen subspezifischen Erscheinungsform dar. – Weitere Arttypen entstehen durch verschiedenartige genetische oder chromosomale Transformationen.

MERXMÜLLER sagt, dass die Frage nach der Realität der Arten hier zwar durchaus positiv zu beantworten sei, dass jedoch die Frage nach der Definition des Artbegriffs offenbleibe, «vielleicht in diesem Sinne gar nicht stellbar ist». Es solle gar nicht versucht werden, die Spezies als natürliche Wesenheit zu konzipieren, sondern es sollten nur ihre verschiedenen Typen definiert werden, «denen aber dann wirkliche reale biologische Funktion zukomme». Wenn man jedoch das augenscheinlich gemeinsam Charakteristische aller dieser «Arttypen» herauslöst, dann hat man ja gerade, so möchte ich hervorheben, einen konzisen Artbegriff in der Hand, der sich gegenüber dem der Subspezies eindeutig abhebt und mit bzw. in den verschiedenen typischen Weisen seiner Realisation (dem Parageneon, Micton, Rheogamenon usw.) ein wirkliches biologisches Sachfundament besitzt: die Spezies als das Totum einer phylogenetisch gliedhaften Evolution auf der Artebene¹.

Drei Konsequenzen ergeben sich aus dieser Konzeption, deren Bedeutung weit über eine fachwissenschaftliche Frage der Systematik hinausliegen:

1. Wir haben in dem Verhältnis von Spezies und Subspezies einen (ich möchte sagen *den*) naturgemässen phylogenetischen Zusammenhang vor Augen, der aber nicht durch äusserliche Summation von sich vermehrender Merkmalsdifferenzierung von unten nach oben verläuft, von der Rasse zur Art, sondern von oben nach unten, nämlich durch analytische oder synthetische Aus- bzw. Aufgliederung des höheren Typus in die niederen. Diese Evolution kann infolgedessen niemals als solche den Artrahmen sprengen.

2. Das naturgegebene Verhältnis der Subspezies (wie etwa der Rasse) zur Spezies zeigt eindeutig, dass die Subspezies ein blosses phylogenetisches Gliedsegment einer vorauszusetzenden umfassenden Spezies ist, welche letztere sich mit und in den subspezifischen Gliedsegmenten von je einer anderen Seite darstellt. Damit ist das grundsätzlich Irrtümliche einer wesensmässigen Verabsolutierung irgendeiner bestimmten Rasse als solcher in seinem Quellpunkt aufgezeigt.

3. Wenn sich die Art empirisch als ein phylogenetisches Totum subspezifischer Formen darstellt, so wird die Frage, ob und was für ein *eo ipso* qualitativ geschlossener metaphysischer Wesensbestand ihr zugrunde liegt und das phylogenetische Geschehen je artgemäss leitet, aufs neue akut.

Summary

The traditional criteria of differences between species and subspecies in botany and zoology (fertility or infertility on the one hand, morphological and physiological similarity or unsimilarity on the other) have finally proved inadequate. Species and subspecies, however, do stand in an unequivocal phylogenetic evolutionary relationship to each other. A species is the totality of subspecific subforms developed through evolution. These subforms in their (analytic or synthetic) phylogenetic

relationship to each other constitute the whole of the species or "the" species. An objective categorial criterion of discrimination is determined by this unequivocal relationship. The question of the determination of species, which is treated in this article from an historical and philosophic-categorical viewpoint, is brought at the same time into connection with the proposal for a newer dynamic determination of species made by the two American biologists CAMP and GILLY.

Congressus

DENMARK

XIVth International Congress of Zoologie

will be held in Copenhagen, Denmark, from 5th–12th August 1953.

The Organizing Committee consists of all Danish professors and directors of institutes covering the scope of the Congress; President is Professor Dr. R. SPÄRCK. Dr. ANTON FR. BRUUN has been appointed Secretary General by the Organizing Committee.

Preliminary plan is to have three General Meetings for all members, while the Congress will be split up into several sections, each of which to concentrate on rather special topics.

While two excursions to West- and East-Jutland have been planned after the Congress and perhaps a third one to study marine fauna of the deeper part of the Skagerrak, no excursions will take place before the Congress.

Membership fee for the Congress has been fixed at 100 Danish Kroner – approximately 5 Guineas (British), or 15 Dollars (U.S.A.).

Dr. ANTON FR. BRUUN

Secretary General, Zoologiske Museum Universitetet, Kristalgade 27, København, July 1952.

Auxilia

CANADA

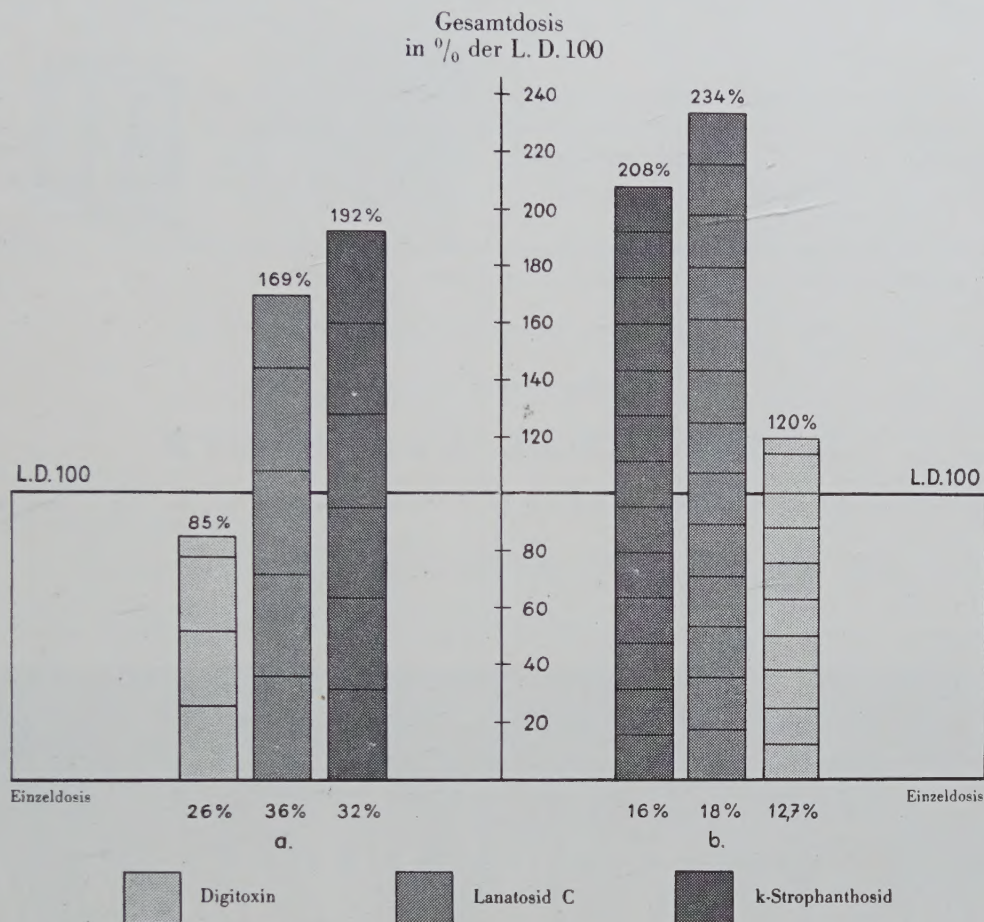
XIXth International Physiological Congress Montreal, August 31–September 4, 1953

Physiologists, biochemists and pharmacologists from outside Canada and the U.S.A. who hope to attend the Congress are asked to notify the secretaries of their national societies of that fact as soon as possible. Their Canadian and American colleagues are anxious to learn the names of intending members in advance, so that they will have time to arrange for special lectures and discussion meetings to be held in their own cities during the weeks preceding following the Congress. Overseas scientists who are invited to take part in such functions will in some cases at least receive financial help that will appreciably reduce the cost of attending the Congress itself.

Physiologists, biochemists and pharmacologists who live in countries where there are no national scientific societies, and who hope to attend the Congress may write directly to the Executive Secretary, 19th International Physiological Congress, McGill University, Montreal, Canada. The position of the writer and his research interests should be given in each case.

¹ In bezug auf den Ausdruck «Artebene» vgl. Anm. 1, S. 401, links.

Mit den pharmakologischen Untersuchungen in den Laboratorien der Sandoz A.G. wurde ein wesentlicher Beitrag zur Differenzierung der verschiedenen herzwirksamen Glycoside geleistet.



Relative toxische Kumulation herzwirksamer Glycoside bei chronischer Verabreichung am Ganztier. Es wird diejenige Gesamtmenge eines herzwirksamen Glycosides, welche zum Tod des Tieres führt, verglichen mit der einmaligen letalen Infusionsdosis nach *Hatcher*

a) bei Verabreichung von grösseren Einzeldosen,

b) bei Verabreichung von kleineren Einzeldosen.

Die Versuche demonstrieren die geringe relative toxische Kumulation von Lanatosid C und k-Strophanthosid.

Suter E., Rothlin E. und Bircher R.: „Glykosidwirkung auf Elektrokardiogramm und Myokard“.
Helv. Physiol. Acta 7, 1, 1949

SANDOZ A.G. - BASEL



BIOLOGICAL ABSTRACTS

A cooperative undertaking by biologists themselves to provide a means for keeping abreast of the rapidly growing and increasingly diversified literature in all fields of biology.

No individual possibly could read the thousands of journals containing significant contributions to the biological sciences. It is well known that much needless effort has been expended on problems that already had been solved. That is why a comprehensive abstracting and indexing service is so necessary both in research and in teaching.

Biological Abstracts covers all the important journals in the United States and many throughout the entire world. Publishing close to 40,000 abstracts annually, it affords the only means by which biologists can keep posted on the work of others in all fields of biology. The annual subscription price of \$50.00 (U. S. funds) is low because more than 3,000 biologists contribute their services for little or no remuneration.

Biological Abstracts also is published in nine low-priced sectional editions specially designed for individuals who are interested only in one or more closely related fields.

The Back Volumes from Volume I (1927) to date still are available.

Write for complete information

BIOLOGICAL ABSTRACTS

UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA PHILADELPHIA 4, PA., U.S.A.

